



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Carlos Filipe Cruz Simões

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Potencial terapêutico da metformina na Doença de Alzheimer” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Maria João Pedroso e da Professora Doutora Bárbara Silva Rocha apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2022



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Carlos Filipe Cruz Simões

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Potencial terapêutico da metformina na Doença de Alzheimer” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Maria João Pedroso e da Professora Doutora Bárbara Silva Rocha apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2022

DECLARAÇÃO DE AUTORIA

Eu, Carlos Filipe Cruz Simões, estudante do Mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2017250819, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Potencial terapêutico da metformina na Doença de Alzheimer” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 6 de setembro de 2022.

Carlos Filipe Cruz Simões

(Carlos Filipe Cruz Simões)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, por me terem possibilitado viver este percurso com tranquilidade e liberdade.

À minha irmã, que será sempre uma fonte de inspiração, persistência e resiliência para mim.

Aos meus amigos e à minha namorada, por me acompanharem e apoiarem durante estes anos desafiadores.

À minha orientadora de monografia, Professora Doutora Bárbara Silva Rocha, pela disponibilidade, compreensão e partilha de conhecimento.

À Diretora Técnica da Farmácia Torres Padilha, Dra. Maria Alcina Padilha, pela oportunidade concedida, total disponibilidade, simpatia e humanidade.

À minha orientadora de Estágio Curricular, Dra. Maria João Pedroso, pela dedicação, amizade, conselhos e palavras generosas em todos os momentos.

Aos colegas da Farmácia Torres Padilha pelos ensinamentos transmitidos e pela amizade construída ao longo deste percurso.

Obrigado!

ÍNDICE

Parte I: Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Torres Padilha

ABREVIATURAS	7
1. INTRODUÇÃO	8
2. ANÁLISE SWOT	9
1.1. PONTOS FORTES	10
1.1.1. Localização geográfica da Farmácia e Instalações.....	10
1.1.2. Integração na equipa técnica da Farmácia Torres Padilha	11
1.1.3. Preparação Individualizada da Medicação (PIM).....	11
1.1.4. Participação na realização de Testes Rápidos de Antigénio	12
1.1.5. Valormed	13
1.1.6. Preparação e Dispensa de Medicamentos Manipulados	13
1.1.7. Conhecimento adquirido na área de Dermofarmácia e Cosmética.....	15
1.1.8. Check-ups.....	17
1.1.9. Aconselhamento e dispensa de suplementos alimentares e MNSRM	17
1.2. PONTOS FRACOS	22
1.2.1. Logística do atendimento ao público.....	22
1.2.2. Nomes comerciais dos medicamentos	22
1.2.3. Aconselhamento de produtos de uso veterinário	23
1.3. OPORTUNIDADES	23
1.3.1. Participação em formações	23
1.3.2. Consultas de nutrição.....	24
1.3.3. Redes sociais.....	24
1.4. AMEAÇAS	25
1.4.1. Nível de conhecimento do utente	25
1.4.2. Locais de venda de MNSRM.....	25
2. CONCLUSÃO	26
3. BIBLIOGRAFIA	27
4. ANEXOS	30

Parte II: Monografia

"Potencial terapêutico da metformina na Doença de Alzheimer"

ABREVIATURAS	33
RESUMO	36
ABSTRACT	37
1. INTRODUÇÃO	38
2. DEMÊNCIA	39
2.1 Definição, epidemiologia e etiologia.....	39
3. DOENÇA DE ALZHEIMER	40
3.1. Introdução.....	40
3.2. Manifestações pré-clínicas e clínicas	41
3.3. Fisiopatologia da DA	41
3.3.1. Hipótese da cascata β -amiloide	42
3.3.2. Hiperfosforilação da proteína tau	43
3.3.3. Neuroinflamação.....	45
3.4. Fatores de risco	47
3.4.1. Fatores genéticos.....	47

3.4.2. Fatores adquiridos.....	48
3.5. Diagnóstico	50
3.6. Estratégias terapêuticas atuais	51
4. METFORMINA.....	51
4.1. Perspetiva histórica	51
4.2. Farmacocinética	52
4.3. Mecanismo de ação.....	54
4.3.1. Mecanismo de ação no fígado.....	54
4.3.2. Mecanismo de ação no intestino.....	56
4.3.3. Mecanismo de ação anti-inflamatório.....	57
4.4. Potencial terapêutico da metformina na Doença de Alzheimer.....	58
4.4.1. Ativação da AMPK.....	59
4.4.2. Inibição da via de sinalização mTOR	60
4.4.3. Atividade Anti-inflamatória.....	61
4.4.4. Inibição do <i>Stress</i> oxidativo	61
4.4.5. Inibição da hiperfosforilação da proteína tau	62
5. CONCLUSÃO	64
6. BIBLIOGRAFIA.....	66

Parte I

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA
- FARMÁCIA TORRES PADILHA -**

ABREVIATURAS

AINES	Anti-inflamatórios Não Esteroides
COVID-19	<i>Coronavírus Disease 2019</i>
DCI	Denominação Comum Internacional
DGS	Direção Geral da Saúde
FTP	Farmácia Torres Padilha
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
MSRM	Medicamento Sujeito a Receita Médica
MNSRM	Medicamento Não Sujeito a Receita Médica
PIM	Preparação Individualizada da Medicação
SARS-COV-2	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2</i>
SIGREM	Sistema Integrado de Gestão de Resíduos de Embalagens e Medicamentos
SINAVE	Sistema Nacional De Vigilância Epidemiológica
SNS	Sistema Nacional de Saúde
SWOT	<i>Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats</i>
TRAg	Testes rápidos de antigénio

I. INTRODUÇÃO

A saúde pública é fundamental para o bem-estar de todas as pessoas, sendo que o fraco acesso a medicamentos, outros produtos de saúde e a profissionais com formação adequada constituem uma barreira à saúde [1]. Estando a farmácia de oficina amplamente acessível à maioria da população, o farmacêutico comunitário é um profissional crucial na melhoria do acesso aos cuidados de saúde, na redução de problemas de efetividade e segurança dos medicamentos, promovendo o uso racional dos medicamentos. Desta forma, o farmacêutico, contribui para a diminuição da ocorrência de efeitos adversos relacionados com os medicamentos, diminuindo a frequência de visitas a unidades de Urgência e internamentos, permitindo uma redução dos custos associados aos mesmos [2]. Assim, a inclusão de um estágio obrigatório em farmácia comunitária no percurso dos futuros farmacêuticos revela-se vantajoso por todas as considerações descritas.

O estágio curricular é parte integrante do plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, sendo que se apresenta como uma unidade curricular destinada à integração na prática profissional, aprendizagem e consolidação de todos os conhecimentos adquiridos ao longo dos anos de formação académica. Assim, pode desempenhar funções de aprovisionamento, armazenamento e gestão de existências de medicamento e produtos de saúde, preparação de medicamentos manipulados, dispensa de medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) e medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM), acompanhados do respetivo aconselhamento e comunicação com outros profissionais da área da saúde.

O presente relatório incide sobre o estágio curricular que decorreu entre o dia 10 de janeiro e 3 de junho de 2022 na Farmácia Torres Padilha, sob orientação da Dra. Maria João Pedroso. Este compreende uma análise SWOT (acrónimo de Pontos Fortes (*Strengths*), Pontos Fracos (*Weaknesses*), Oportunidades (*Opportunities*) e Ameaças (*Threats*)), com o propósito de avaliar a minha prestação na FTP. Irei abordar a adequação da formação académica às perspetivas profissionais futuras, apresentar diversos exemplos de casos práticos onde tive a oportunidade de interligar os conhecimentos teóricos adquiridos com a prática profissional, bem como proceder às considerações finais.

2. ANÁLISE SWOT

A análise SWOT é uma ferramenta estratégica utilizada para avaliar e comparar uma empresa ou serviço com a sua concorrência, auxiliando na tomada de decisões. A nível individual, o estudo permite avaliar uma determinada prestação, como é o caso da presente análise SWOT (**Tabela I**) que, como anteriormente referido, tem como foco o meu Estágio Curricular na Farmácia Torres Padilha. Na dimensão interna, a identificação dos Pontos Fortes (*Strengths*) e Pontos Fracos (*Weaknesses*), permitiram-me compreender quais as situações em que me posso destacar e aperfeiçoar, respetivamente. Na dimensão externa, temos as oportunidades (*Opportunities*) e ameaças (*Threats*). A determinação das oportunidades ajudou-me a reconhecer ocasiões passíveis de serem exploradas pela farmácia de modo a enriquecer a minha experiência. As ameaças são realidades externas que podem ser prejudiciais ao sucesso enquanto estagiário. Encarei as mesmas com grande naturalidade, pois são essenciais para saber como agir em determinadas situações e modelar o discurso, visando uma melhor compreensão pelo recetor, o utente.

Tabela I: Análise SWOT do Estágio Curricular na Farmácia Torres Padilha

Pontos Fortes (<i>Strengths</i>)	Pontos Fracos (<i>Weaknesses</i>)
<ul style="list-style-type: none">▪ Localização geográfica da Farmácia e Instalações.▪ Integração na equipa técnica da Farmácia Torres Padilha.▪ Preparação Individual da Medicação (PIM).▪ Participação na realização de Testes Rápidos de Antigénio.▪ Valormed.▪ Preparação e Dispensa de Medicamentos Manipulados.▪ Conhecimento adquirido na área de Dermofarmácia e Cosmética.▪ <i>Check-ups</i>.▪ Aconselhamento e Dispensa de MNSRM.	<ul style="list-style-type: none">▪ Logística do atendimento ao público.▪ Nomes comerciais dos medicamentos.▪ Aconselhamento de produtos de uso veterinário.
Oportunidades (<i>Opportunities</i>)	Ameaças (<i>Threats</i>)
<ul style="list-style-type: none">▪ Participação em formações.▪ Consultas de nutrição.▪ Redes Sociais.	<ul style="list-style-type: none">▪ Nível de conhecimento do utente.▪ Locais de venda de MNSRM.

I.1. PONTOS FORTES

I.1.1. Localização geográfica da Farmácia e Instalações

A Farmácia Torres Padilha ocupa uma posição central na Vila da Lousã, na Avenida Dr. José Maria Cardoso. Na sua periferia, encontra-se o Quartel dos Bombeiros Municipais da Lousã, diversas zonas de restauração, escritórios, hipermercados, constituindo-se, ainda, como uma zona residencial, permitindo uma elevada afluência a esta Farmácia, com uma quota considerável de utentes fidelizados.

As instalações são adequadas para a realização da maioria das atividades necessárias. A zona de atendimento é um espaço agradável, amplo, com bastante luminosidade natural, onde se inserem cinco balcões de atendimento com a devida distância, permitindo um aconselhamento privado e discreto. Ao redor dos balcões coexistem montras que representam uma zona quente, onde estão normalmente expostos *packs* promocionais, produtos sazonais, como, por exemplo, suplementos alimentares para fortalecer o sistema imunitário no inverno, e filtros solares no verão. O *backoffice*, foi especialmente criado para maximizar a interação entre os vários colaboradores e dinamizar todos os processos. Aqui estão presentes diversas zonas de organização, tais como promoções em vigor, distribuição de tarefas, objetivos a atingir, reservas, bem como dispositivos essenciais para o seu funcionamento como computadores, telefones, entre outros. A zona *backoffice* comunica com o laboratório, que dispõe de todas as condições para a realização de manipulados e de conservação de matérias-primas e reagentes e, ainda, com o armazém, onde se encontram todos os medicamentos genéricos e todos os excedentes, criteriosamente organizados por ordem alfabética.

A farmácia conta, ainda, com quatro gabinetes, da direção técnica, dos colaboradores e dois com acesso a partir da zona de atendimento, sendo que um destes se destina à realização de *check-ups* de tensão arterial, medição do colesterol total na corrente sanguínea, glicemia e realização de testes rápidos de antigénio à COVID-19. O quarto gabinete está idealizado para consultas de nutrição, bem como proporcionar um atendimento mais personalizado e privado, caso exista essa necessidade. Destaca-se, em último lugar, a existência de duas instalações sanitárias para funcionários e utentes e, ainda, de uma pequena sala exterior, na parte traseira da farmácia, onde todos os fornecedores deixam as respetivas encomendas.

As zonas da farmácia que albergam medicamentos, suplementos, matérias-primas, reagentes e outros produtos têm as suas condições ambientais extremamente controladas por termohigrómetros, estrategicamente colocados na zona de atendimento, *backoffice*,

laboratório, armazém e frigorífico, onde estão colocados medicamentos que necessitam de temperaturas mais baixas. Desde o início do estágio curricular foi-me inculcida a responsabilidade de controlar semanalmente estes aparelhos, analisar os respetivos dados de humidade e temperatura, justificar possíveis incongruências e realizar o seu arquivo em *dossiers*.

1.1.2. Integração na equipa técnica da Farmácia Torres Padilha

A Farmácia Torres Padilha prima pela excelência no que concerne aos colaboradores e dispõe de uma equipa variada onde se inserem farmacêuticos, técnicos de farmácia, uma gestora e uma funcionária que realiza a limpeza do espaço. No primeiro dia, a 10 de janeiro de 2022, a Diretora Técnica, Dra. Maria Alcina Padilha, apresentou-me os diversos espaços, bem como a organização geral destes e, gradualmente, tive a oportunidade de conhecer os restantes membros da equipa técnica.

A integração é um dos pontos cruciais para o sucesso do estagiário. A hospitalidade e disponibilidade por parte dos colegas fez-me sentir parte da equipa desde o primeiro dia de estágio, o que se reflete na realização de todas as tarefas, bem como na motivação para as realizar. Na FTP, o erro é visto como parte do processo de aprendizagem para alcançar o sucesso, pelo que me foi dado o espaço de errar para aprender de forma natural e despertar mais a minha autonomia e independência.

1.1.3. Preparação Individualizada da Medicação (PIM)

A Preparação Individualizada de Medicamentos é um serviço farmacêutico que consiste na organização das formas farmacêuticas sólidas num determinado dispositivo multicompartimental [3]. No caso da Farmácia Torres Padilha, são utilizadas caixas descartáveis (**Figura 1**), que permitem ao utente, ou ao seu cuidador, saber quais os medicamentos que deve tomar, bem como o horário correto dessa mesma administração. O serviço tem como principal alvo a população idosa polimedicada, visto que, decorrente do processo natural de envelhecimento e o declínio cognitivo, os mesmos podem, muitas vezes, interferir com a gestão da medicação de forma negativa.

À polimedicação está associada a uma taxa muito elevada de não adesão à terapêutica, pelo que o serviço PIM poderá minimizar a não adesão à terapêutica involuntária (por exemplo, devido a esquecimento, não deslocação à farmácia, entre outros) [3]. Embora o grupo anunciado anteriormente seja o principal alvo, qualquer utente que tenha dificuldade em gerir a sua medicação é candidato a este serviço. Normalmente, ao balcão, o profissional,

durante o atendimento, percebe se existem lacunas na gestão da medicação e apresenta o serviço PIM quando é apropriado.

O serviço PIM está a cargo da Dra. Maria João que, inicialmente, efetua uma breve análise do guia terapêutico cedido pela médica onde deteta possíveis interações *major* e duplicações de dose e, posteriormente, procede à sua preparação em ambiente de laboratório. No decorrer do meu estágio curricular, foi-me concedida a oportunidade de realizar a preparação individualizada da medicação com a supervisão de outro farmacêutico, o que me permitiu um contacto mais próximo com este serviço e com os utentes a quem se destinava. A caixa descartável é, posteriormente, selada e entregue ao utente, a partir do nosso serviço de entrega ao domicílio. Desta forma, conseguimos fazer chegar a medicação à população que esteja mais isolada e tenha mais dificuldade em deslocar-se até à farmácia.



Figura 1 - Serviço de Preparação Individualizada da Medicação disponibilizado pela Farmácia Torres Padilha.

1.1.4. Participação na realização de Testes Rápidos de Antígeno

Em cenário de pandemia, é inevitável a interferência da COVID-19 no estágio curricular, principalmente numa farmácia que realiza Testes Rápidos de Antígeno (TRAg). Enquanto estagiário, permitiu-me estar sempre a par de todas as atualizações das normas emitidas pela Direção Geral da Saúde (DGS), visando oferecer o melhor aconselhamento aos utentes. Particpei ativamente na marcação de testes, no preenchimento das inscrições, com a precaução de pesquisar a elegibilidade à participação do utente, gestão de *stocks* de todos os materiais necessários à realização dos testes, bem como comunicar os resultados ao utente e ao SINAVE (Sistema Nacional De Vigilância Epidemiológica).

A pedido de várias instituições de apoio a indivíduos portadores de deficiência e idosos, a Farmácia Torres Padilha realizou testes aos utentes nestes locais. Foi-me concedido, regularmente, o voto de confiança, por parte da direção técnica, para me deslocar a essas mesmas instituições com uma enfermeira para a realização dos mesmos. A minha presença nestes locais permitiu-me uma maior proximidade com a população, esclarecer diversas dúvidas das próprias colaboradoras dos lares como, por exemplo, no que concerne ao tratamento de pequenas feridas, interagir com outros profissionais de saúde e, ainda melhorar as minhas capacidades comunicativas.

1.1.5. Valormed

A Valormed é uma sociedade sem fins lucrativos, responsável pela gestão dos resíduos de embalagens vazias e medicamentos fora de uso através do SIGREM (Sistema Integrado de Gestão de Resíduos de Embalagens e Medicamentos) [4]. Estes resíduos são, posteriormente, transportados para um centro de triagem, onde são separados para reciclagem, no caso do papel, cartão, plástico e vidro, ou para incineração, no caso dos medicamentos. Esta medida permite diminuir a contaminação do ambiente envolvente, dado que o descarte de medicamentos a nível doméstico, seja para a rede de abastecimento de águas ou lixo comum, culmina na contaminação do ambiente e da água [5].

Como agente de saúde pública, o farmacêutico tem deveres ecológicos e deve salvaguardar o equilíbrio ambiental, bem como a proteção e preservação da saúde pública [6]. Assim, ao sensibilizar a população para a utilização dos contentores da Valormed para descartar os medicamentos fora de uso, pude contribuir para a diminuição do impacto ambiental que estes podem causar, bem como os efeitos nefastos que estes têm nos diversos organismos.

A título exemplificativo da importância desta questão, os antibióticos representam a segunda classe terapêutica detetada com maior frequência no ambiente, sendo que o primeiro lugar é ocupado pelos AINES (Anexo 4). A exposição a concentrações subterapêuticas de antibióticos provenientes do meio ambiente contribui para o desenvolvimento de resistências bacterianas, que se apresenta como um problema de saúde pública emergente, e conseqüente falta de efetividade das terapêuticas [5].

1.1.6. Preparação e Dispensa de Medicamentos Manipulados

O Medicamento Manipulado, é definido como “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico” [7].

Estes medicamentos estão ao abrigo de legislação própria e devem ser preparados segundo um conjunto de normas, as Boas Práticas de Preparação de Medicamentos Manipulados, que visam a sua preparação com a devida qualidade e garantem a sua reprodutibilidade. As recomendações são as mais variadas e englobam normas sobre pessoal qualificado, instalações, equipamentos, documentos, matérias-primas, material de embalagem, preparação, controlo de qualidade e rotulagem. O rótulo deve conter toda a informação necessária em caracteres legíveis, contudo, no momento da dispensa, toda a informação oral deverá ser transmitida ao utente, para este utilizar corretamente o medicamento e cumprir a terapêutica estipulada pelo médico [8]. No decorrer do meu estágio na Farmácia Torres Padilha tive a oportunidade de preparar medicamentos manipulados, como uma pomada de vaselina com enxofre a 6% (**Figura 2**) e, ainda, uma solução alcoólica de ácido bórico à saturação.

A pomada de vaselina com enxofre (2% a 10%) é utilizada para erradicar a escabiose, mais vulgarmente conhecida como sarna. Representa uma opção vantajosa do ponto de vista económico por apresentar um valor mais baixo relativamente a outras pomadas, mas também no que concerne ao seu perfil de segurança em crianças e grávidas [9]. No momento da dispensa deste medicamento manipulado, é importante reiterar a sua utilização correta e aconselhar o utente no sentido em que todo o corpo deve ficar impregnado com a pomada, inclusive, as mãos e unhas. Outras medidas devem ser mencionadas, como a lavagem de roupas e tecidos, que possam ter contactado com a pele infetada, a altas temperaturas [9].

A solução alcoólica de ácido bórico à saturação é utilizada para situações de otite devido às propriedades bacteriostáticas do ácido bórico. Com o aumento da resistência aos antibióticos, são necessários outros tratamentos que sejam eficazes, pelo que a associação de ácido bórico à antibioterapia demonstra ser mais eficaz no tratamento de otites [10].

Com a evolução científica, existem cada vez mais terapêuticas inovadoras, pelo que a prescrição e preparação de manipulados em farmácia comunitária é cada vez menor. Contudo, com a preparação destes medicamentos manipulados pude pôr em prática os meus conhecimentos adquiridos na unidade curricular de Farmácia Galénica.



Figura 2 - Acondicionamento primário da pomada de vaselina com enxofre a 6% com o respetivo rótulo.

1.1.7. Conhecimento adquirido na área de Dermofarmácia e Cosmética

A venda de produtos cosméticos está altamente disseminada em diversas lojas e plataformas *online* e, na generalidade, com preços e *packs* promocionais muito mais apelativos ao público. A farmácia, em detrimento das lojas convencionais, conta com profissionais qualificados para prestar um aconselhamento técnico sobre a utilização destes produtos, pelo que o utente deverá sentir-se valorizado quando frequenta este espaço de saúde.

O conhecimento teórico e tecnológico adquirido na unidade curricular de Dermofarmácia e Cosmética durante o MICF foi crucial para o meu desempenho em contexto de farmácia de oficina. A abrangência de conteúdos e resolução de casos práticos que se debruçaram sobre as mais variadas situações e afeções de pele permitiram-me obter o conhecimento necessário para aconselhar produtos aos utentes de forma autónoma, bem como informar acerca da sua correta utilização.

Durante a minha estadia na Farmácia Comunitária, pude colocar, diariamente, os conhecimentos teóricos adquiridos em prática, recomendando produtos para uma gama diversa de afeções e cuidados cosméticos. As condições que mais se destacaram foram a saúde oral, principalmente situações relativas a gengivas sensíveis, a pediculose, cuidados solares e pós-solares, pele atópica e antienvhecimento. Neste contexto, no ponto abaixo, serão apresentados dois casos práticos relativos ao contorno de olhos e gengivas sensíveis.

1.1.7.1. Casos Práticos - Dermofarmácia e Cosmética

1.1.7.1.1. Contorno de Olhos

A utente relata que, no dia anterior, experimentou uma amostra de um produto para o contorno de olhos e que não sentiu nenhum desconforto de imediato. Durante a noite, admite levantar-se várias vezes para beber água devido ao calor que sentia na zona da face. Ao observar-se ao espelho, verifica que a zona do contorno de olhos apresenta alguma vermelhidão e ardor, pelo que decide lavar a cara com água corrente, na tentativa de retirar o produto da face. Questionou-me sobre algum produto que pudesse colocar de forma segura, tanto para atenuar os seus sintomas, como para uso regular como contorno de olhos.

Ao avaliar a situação e após dialogar com a utente, recomendei um produto de contorno de olhos da gama Toleriane da La Roche Posay®, que se destina a contorno dos olhos sensíveis, irritados com alguma vermelhidão, inchaço e desconforto. A formulação conta com ingredientes cosméticos que vão acalmar a zona em questão, reduzir a sensação de comichão e desconforto e ainda restabelecer a microbiota da pele. Após a apresentação do produto, referi algumas recomendações sobre o cuidado diário do contorno de olhos, tais como a aplicação do cosmético com pouca pressão sobre a região, utilizando apenas uma pequena quantidade na ponta do dedo, com suaves batidas, sem esfregar.

Na minha opinião, sempre que se recomenda um produto cosmético, é imperativo que se explique a forma de realizar a aplicação, pois faz toda a diferença no que concerne aos resultados cosméticos obtidos. No dia seguinte, a utente regressa à farmácia referindo que se sente muito melhor e que a zona já não apresenta vermelhidão ou sinais de irritação.

1.1.7.1.2. Recessão gengival

A utente relata que tem um problema nas suas gengivas e que, sendo este recorrente, necessita de visitar a clínica de medicina dentária frequentemente. Ao dialogar, a utente diz que a sua gengiva começa a diminuir e apresenta sinais de irritação como vermelhidão e sangramento. Percebi rapidamente que se trataria de um caso de recessão gengival, situação caracterizada pela retração da gengiva, expondo a raiz do dente, ficando inflamada, levando ao aumento da sensibilidade das mesmas, dor, mau hálito, sangramento, perda de osso alveolar e, por fim, perda dos dentes.

O meu aconselhamento recaiu sobre um gel dentífrico e um colutório adequados para o cuidado intensivo das gengivas sensibilizadas. A sua composição com clorohexidina, que previne o desenvolvimento do biofilme e da placa bacteriana diminui o risco e

agravamento de infeções, já que esta tem um amplo espectro de atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, afinidade para ligação às mucosas e baixa toxicidade para os mamíferos [11]. A formulação conta, ainda, com dexpanthenol que reduz a perda transepidermal de água (TEWL), atuando como hidratante e calmante em situações de irritação [12].

A ação mecânica realizada pela escova de dentes nas gengivas, aquando da higienização oral, é um fator que pode exacerbar o problema, já que a pressão exercida pela escovagem favorece o ferimento e, conseqüentemente, a diminuição da gengiva. Posto isto, recomendei a utilização de uma escova de dentes periodôntica, que graças às cerdas suaves e recorte adequado permite uma escovagem e higienização oral confortável. Dependendo da marca, a escova pode ainda ser apta à esterilização no micro-ondas, o que é uma vantagem para prevenir as infeções gengivais recorrentes.

Por fim, reiterarei a importância de uma alimentação equilibrada, que em muito influencia a saúde oral, a escovagem dos dentes, duas a três vezes por dia, com o gel dentífrico que aconselhei e posteriormente a utilização do colutório, evitar o tabagismo e qualquer material que possa agredir as gengivas.

1.1.8. Check-ups

No decorrer do meu estágio na FTP tive a oportunidade de realizar *check-ups* à pressão arterial, glicémia e colesterol total. Na primeira semana, a Dra. Maria Alcina e Dra. Maria João, demonstraram-me como deveria proceder para realizar estes rastreios, bem como todos os cuidados necessários, o que me permitiu estar confortável com o ambiente de gabinete.

Enquanto estagiário, a realização destes *check-ups* permitiu-me conhecer melhor os utentes que, normalmente, recorrem a estes serviços, e criar relações de empatia com os mesmos. Em todas as situações procurei saber um pouco da história clínica do utente, questionando-o acerca de possíveis patologias, medicação, valores anteriormente medidos, os seus objetivos e dúvidas relativamente à terapêutica. Desta forma, pude aplicar os conhecimentos adquiridos durante o MICF com o objetivo de aconselhar o utente de forma pertinente e profissional.

1.1.9. Aconselhamento e dispensa de suplementos alimentares e MNSRM

A formação académica concedida pela Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra permitiu-me, na maioria das situações, aconselhar o utente com grande naturalidade numa gama vasta de problemas de saúde. Destacou-se a importância das

unidades curriculares de Fitoterapia e Indicação Farmacêutica, que em muito contribuíram para a correta abordagem dos casos apresentados diariamente na farmácia de oficina. Diariamente, pude aconselhar em diversas ocasiões, como no tratamento de afeções respiratórias, problemas gastrointestinais, situações de dor, tratamento e desinfecção de feridas, aconselhamento de suplementos, cosméticos, entre outros.

De seguida, serão apresentados alguns casos práticos que espelham o aconselhamento cedido e produtos dispensados em situações de diarreia, dores de costas, insónias e stress, falta de concentração e garganta irritada.

1.1.9.1. Caso Prático: Diarreia | Utente do sexo feminino, 22 anos |

A utente solicitava uma embalagem de Imodium® Rapid, para o alívio rápido e eficaz da diarreia. Quando questionada acerca de outros sintomas, indicava náuseas, vômitos e dor abdominal. Não apresentava febre, nem realizara nenhuma viagem recente, pelo que descartei a hipótese de ser um caso de diarreia do viajante.

A loperamida, princípio ativo presente no Imodium® Rapid, é um antidiarreico que atua ligando-se aos recetores opiáceos da parede intestinal. Consequentemente, reduz o peristaltismo e aumenta o tempo do trânsito intestinal e o tónus do esfíncter anal, reduzindo a incontinência [13]. Não sabendo a origem da diarreia, concluí que não deveria ceder o medicamento solicitado, pois, estaria a travar um reflexo de defesa do próprio organismo.

Aconselhei a utente a fazer reposição de eletrólitos e fluidos para prevenir a desidratação e dos problemas que pode desencadear. Desta forma, recomendei a toma de Dioralyte® (hidrogenocitrato dissódico hidratado, cloreto de potássio, cloreto de sódio e glucose) em saquetas para dissolver num copo de água. Referi, ainda, que deve haver uma preferência por alimentos cozidos temperados com sal, sopas e ingestão de líquidos. Para regularizar o trânsito intestinal, sugeri a utilização de um produto para a reposição da flora intestinal, como o Atyflor®, cuja constituição conta com probióticos para a normalização da função intestinal.

Além disso, pediu um produto para a dor abdominal que sentia, pelo que aconselhei Buscopan® Compositum N. Na sua constituição entra o Paracetamol, que atua como analgésico e o brometo de butilescopolamina, como antiespasmódico atuando na origem da dor. Informando ainda que poderá ser utilizado em caso de dores menstruais, caso seja necessário.

1.1.9.2. Dores de costas | Utente do sexo feminino, 57 anos |

Um senhor dirige-se à farmácia alegando necessitar de um Voltaren® 75 mg em comprimidos para aliviar as dores de costas da sua mãe. Primeiramente, questionei-o acerca das dores de costas da senhora, pelo que foi dito que estas se situavam no fundo das costas e interferiam negativamente no dia-a-dia. Informei o senhor que o Voltaren® 75 mg em comprimidos é um medicamento sujeito a receita médica e que apenas o Voltaren® 25 mg em cápsulas moles é um medicamento não sujeito a receita médica.

Ao questionar acerca de outros problemas de saúde da sua mãe, o senhor informou-me que esta sofre de asma. Ao consultar a ficha da utente, observo que toma Xarelto® (rivaroxabano), um anticoagulante oral direto. Mais uma vez, questionei o senhor, acerca da toma de anticoagulantes pela sua mãe, sendo que a resposta foi afirmativa.

Desta forma, desaconselhei o uso de Voltaren® 25 mg em cápsulas moles, dado que o princípio ativo presente no medicamento, o diclofenac, é um anti-inflamatório não esteroide. Este grupo de fármacos inibe a cicloxigenase, que é uma enzima importante na formação de prostaglandinas e tromboxano A2 a partir do ácido araquidónico, com origem nos fosfolípidos da membrana celular. As prostaglandinas são essenciais para o aparecimento dos sinais e sintomas relacionados com inflamação, como a dor e febre. O tromboxano A2 é responsável pela agregação plaquetária, entre outras funções, pelo que a sua inibição associada ao uso de anti-inflamatórios potencia a ocorrência de hemorragias em doentes anticoagulados [14]. A inibição da cicloxigenase, tem como consequência a utilização do ácido araquidónico por parte da enzima lipoxigenase com formação de leucotrienos. Estes causam a constrição das vias respiratórias podendo levar à exacerbação da asma da utente [14].

O meu aconselhamento prendeu-se com a utilização de Voltaren® gel para massajar no local da dor, visto que nesta forma farmacêutica, o efeito sistémico do princípio ativo é muito reduzido, desta forma os efeitos adversos não são clinicamente relevantes, sendo, portanto, uma opção segura e eficaz [15].

1.1.9.3. Insónias e Stress | Utente do sexo feminino, 42 anos |

A utente relata que, ultimamente, anda com muito *stress* e que durante a noite não consegue ter um sono tranquilo, com pesadelos e despertares constantes. A mesma questiona se existe algum produto que a possa ajudar a adormecer e que contribua para o aumento da qualidade do seu sono, bem como um que ajude a diminuir o seu *stress*.

Primeiramente, interroguei a senhora acerca do possível gatilho que esteja na origem no seu stress, há quanto tempo durava a situação e se já tinha experimentado algum produto para diminuir o *stress* ou ansiedade, sendo que me respondeu que nunca tinha tomado nada para esse efeito e que a situação já se prolongava há cerca de duas semanas, sendo que um dos fatores desencadeantes seria o trabalho.

Com o objetivo de diminuir as insónias, salientei a importância de medidas para promover uma maior qualidade e higiene do sono, tais como evitar fazer refeições muito pesadas ao jantar e evitar bebidas alcoólicas e estimulantes, como o café e chá [16]. Referi que a utilização de equipamentos eletrónicos antes de dormir é prejudicial e que o ambiente deve ser propício para um sono tranquilo devendo, por exemplo, ajustar a luminosidade e temperatura [16]. A prática de exercício físico em horários adequados é, também, uma estratégia para diminuir o *stress* e ansiedade, assim como contribuir para a saúde em geral.

Aproveitei para aconselhar a utilização de dois suplementos onde se inserem extratos de diversas plantas medicinais. O primeiro, para diminuir o *stress* que a senhora experimenta durante o dia, contém *Rodiola rosea* na sua composição que, tendo propriedades adaptogénicas, normaliza as funções do organismo e aumenta a resistência ao *stress* [17] [18]. O segundo apresenta-se como uma associação de extratos de alecrim e lavanda, e melatonina para atuar nas insónias relatadas. Os extratos destas plantas contribuem ativamente para o aumento da qualidade geral do sono, e no caso da lavanda, a diminuição dos despertares noturnos [19]. A melatonina exógena administrada por suplementação alimentar demonstra diminuir o tempo para adormecer, aumentar a eficiência do sono, bem como a sua duração [20]. Desta forma, recorrendo à fitoterapia pude atuar com prontidão em todos os problemas relatados pela utente, que adquiriu ambos os produtos.

1.1.9.4. Falta de concentração | Utente do sexo feminino, 34 anos |

A utente deslocou-se até à farmácia para comprar alguns medicamentos para a sua mãe, para os quais tinha receita médica, e aproveitou para referir que anda com alguns problemas de concentração, que interferem muito no seu trabalho, que é maioritariamente em ambiente de escritório. Ao dialogar com a utente, esta refere que não tem problemas em adormecer, nem outros problemas de saúde, que o seu sono é, relativamente, tranquilo e que esta falta de concentração ocorre nos períodos onde existe uma maior carga de trabalho. Por fim, pergunta se existe algo que possa tomar com o objetivo que melhorar a sua concentração.

Após a avaliação da situação, aconselhei um produto que reúne constituintes importantes para a função cerebral, memória e concentração como a *Ginkgo biloba* e *Panax ginseng* em associação outras vitaminas e minerais. A *G. biloba* tem propriedades vasoreguladoras e promove o aumento de fluxo sanguíneo ao cérebro, explicando os seus efeitos positivos na memória, concentração, mas também em cansaço, falta de energia e depressão [21]. Por sua vez, o *P. ginseng*, devido às suas capacidades adaptogénicas contribui para a normalização do organismo frente a uma variedade de agressões ambientais e emocionais. Tem um efeito protetor contra o stress, promove a eliminação de toxinas, regula os ritmos biológicos e contribui para um melhor desempenho da memória e concentração [21] [22].

Como medidas não farmacológicas, reiterarei, principalmente, a importância de uma alimentação saudável e variada, com vista ao aporte de nutrientes e hidratação necessários para a correta função do organismo, sobretudo a nível cerebral.

1.1.9.5. Garganta irritada | Utente do sexo feminino, 27 anos |

A utente solicita uma embalagem de Brufen® 600 mg, pois relata algum desconforto a nível da garganta. Refere ainda que tem familiares infetados com SARS-CoV-2 e, apesar de não coabitar com os mesmos, tinha realizado com refeição na casa dos mesmos no fim de semana, pelo que relata alguma preocupação, pois não sabe se está infetada. Não apresentava nenhum outro problema de saúde.

Questionei a senhora acerca da possibilidade de realizar um TRAg nas nossas instalações para esclarecer as dúvidas pelo que esta me disse preferir levar um autoteste para realizar em casa. Aconselhei a senhora sobre a realização do mesmo e interpretação de resultados, bem como o procedimento a tomar caso o resultado fosse positivo. Relativamente ao desconforto na garganta, reiterarei a necessidade de prescrição médica para adquirir o Brufen® 600 mg e, que na situação em que se encontrava, este não era o medicamento apropriado para tratar os seus sintomas.

O meu aconselhamento recaiu sobre a utilização de Strepisils® (1,2 mg de Álcool diclorobenzílico e 0,6 mg Amilmetacresol) Mel e Limão, com ação suavizante, antisséptica, antibacteriana e propriedades antivirais. Retirando partido das capacidades anti-inflamatórias, antioxidantes e emolientes, o mel representa um ingrediente seguro muito vantajoso para o tratamento dos utentes com irritação na garganta [23]. Na dispensa do medicamento, indiquei à utente que cada pastilha pode ser administrada a cada duas a três horas, conforme necessário, e que esta deve ser dissolvida lentamente na boca. Como medidas não

farmacológicas, frisei a importância da ingestão regular de água e líquidos como chás ou infusões aromatizadas com mel, alimentação equilibrada e repouso.

1.2. PONTOS FRACOS

1.2.1. Logística do atendimento ao público

O atendimento ao público apresenta uma elevada complexidade, derivada da necessidade de aplicar os conhecimentos científicos, clarificar as dúvidas dos utentes e saber como comunicar todas as informações de forma clara e precisa pelo que, inicialmente, houve uma maior preocupação com todos os procedimentos que o atendimento exige.

Infelizmente, o sucesso, muitas vezes, depende de variáveis que em nada estão relacionadas com as questões técnicas. Assim, o conhecimento dos diversos módulos do *software* Sifarma 2000[®] e novo Sifarma (atualização do *software* Sifarma 2000[®]), ferramentas utilizadas na FTP, demonstra-se essencial para um atendimento simplificado com um discurso fluido e agradável.

As situações nas quais revelei algumas dificuldades dizem respeito à logística requerida pelas receitas manuais e à inserção de subsistemas de participação adicional ao SNS (Sistema Nacional de Saúde). As receitas manuais rapidamente se apresentaram como um ponto fraco, não só pela dificuldade de interpretação da medicação prescrita, mas por todos os procedimentos adicionais como a inserção manual do plano de participação, do qual o utente é detentor, a respetiva validação do número de utente e, ainda, a impressão no verso das mesmas. A inclusão de participações adicionais, às quais determinados utentes têm direito, mediante a apresentação do respetivo documento, sob a forma de cartão, revelou-se, igualmente, uma situação que resultou num tempo acrescido de atendimento.

O auxílio cedido por toda a equipa técnica da FTP e o contacto diário com estas situações contribuiu positivamente para a minha aprendizagem. Assim, posteriormente, pude realizar estas tarefas com uma maior confiança e independência, possibilitando uma maior concentração nas informações e aconselhamentos cedidos ao atendimento.

1.2.2. Nomes comerciais dos medicamentos

Inicialmente, o conhecimento dos medicamentos pelo seu nome comercial, normalmente utilizado pelos utentes, exigia uma rápida pesquisa sempre que era questionado acerca de um medicamento específico. Esta situação condicionava a rapidez e destreza ao balcão da farmácia quando confrontado com receitas médicas e guias de

tratamento, onde normalmente os medicamentos são descritos na Denominação Comum Internacional (DCI).

Durante o percurso académico no MICEF, a designação dos medicamentos comumente utilizada era a DCI, contudo, foram diversas as ocasiões em que eram apresentados, nos casos clínicos cedidos pelos docentes das unidades curriculares, os nomes comerciais com o intuito de preparar os alunos para a realidade da farmácia de oficina. Hoje em dia, devido à vasta gama de medicamentos presentes no mercado, seria impossível que todos fossem abordados nos casos clínicos, pelo que o estágio curricular e o contacto diário com variadíssimos MSRM possibilitaram esta aprendizagem.

1.2.3. Aconselhamento de produtos de uso veterinário

A componente da farmácia comunitária que engloba os tratamentos veterinários e a saúde animal foi, talvez, aquela em que percecionei uma clara falta de formação e conhecimentos para clarificar as dúvidas dos utentes. Inicialmente, era necessária uma rápida pesquisa para esclarecer as questões que me eram colocadas durante o atendimento. No entanto, ao contactar diariamente com os produtos, adquiri mais experiência na área, o que me permitiu responder com prontidão aos pedidos dos utentes.

A unidade curricular de Preparações de Uso Veterinário do MICEF, lecionada de uma forma lógica e coerente, debruça-se sobre matérias que considero extremamente interessantes, porém, revelam-se insuficientes para um correto desempenho do estagiário em contexto de farmácia de oficina. Acredito que poderá haver uma reforma no sentido de incluir, no plano curricular da disciplina, um capítulo que inclua casos práticos, de forma a contribuir para o conhecimento das marcas existentes no mercado, mas também no aconselhamento prestado ao utente.

1.3. OPORTUNIDADES

1.3.1. Participação em formações

A evolução dos produtos e serviços, bem como a sua publicidade em plataformas adequadas abertas ao público, cria a necessidade, nos farmacêuticos, de se manterem constantemente atualizados no que concerne a novos produtos e tratamentos, atualizações de diversas formulações e as vantagens que advêm da sua utilização, em detrimento de outros.

Ao longo dos seis meses de estágio na Farmácia Torres Padilha, a participação em ações de formação permitiu-me conhecer novos produtos e aprofundar o meu conhecimento acerca de outros. Deste modo, adquiri diversas informações que utilizei no

aconselhamento diário de produtos aos utentes. Neste âmbito, tive a oportunidade de participar numa formação sobre o plano de *Dieta EasySlim*[®], que se revelou vantajosa, pois aprendi a abordar o tema de uma forma natural com utentes que desejavam perder peso, mas também no conhecimento da vasta gama de produtos da marca e em que situações os recomendar. De frisar, ainda, as formações das marcas *Telfast*[®], *Claritine*[®] e *Dulcolax*[®], que em muito contribuíram para modelar o meu discurso, no sentido de melhorar o meu aconselhamento, na hora de recomendar estes produtos.

1.3.2. Consultas de nutrição

A presença de consultas nutricionais possibilitou-me uma maior proximidade com a profissão do nutricionista e, deste modo, aprofundar determinados conceitos da área. Com a presença de uma vasta gama de produtos da *Dieta EasySlim*[®] exposta em lineares, é importante saber em que consistem e em que situações são utilizados em função dos objetivos dos utentes. Assim, a formação que adquiri neste contexto deu-me a oportunidade de adquirir competências para clarificar algumas dúvidas dos demais interessados, função que realizei ao balcão de atendimento e por chamada telefónica.

O serviço em causa representa uma vantagem para a farmácia, visto que oferece a possibilidade de explorar uma determinada fração populacional da Lousã, que deseja perder peso. Com a aproximação do verão, é notória a maior adesão às consultas nutricionais, sendo que o plano mais procurado é o jejum intermitente, devido à sua maior disseminação nos *media*, mas também pelos alegados resultados obtidos.

1.3.3. Redes sociais

Na atualidade, as redes sociais representam uma plataforma de disseminação de conteúdos explorada por praticamente todas as áreas, incluindo a farmácia. A página de *Facebook* e *Instagram* da Farmácia Torres Padilha permitem a divulgação de informações de saúde, serviços prestados pela farmácia com o respetivo horário, eventos, promoções, entre outros, de modo a alcançar uma maior visibilidade pelos utilizadores das redes sociais. A minha participação no desenvolvimento das publicações foi recorrentemente requerida, não só no *design*, mas também na calendarização das mesmas, assuntos a abordar e informação científica a incluir.

1.4. AMEAÇAS

1.4.1. Nível de conhecimento do utente

Atualmente, o utente que frequenta a farmácia comunitária é, sem dúvida, mais informado devido à divulgação de informação e desinformação nos *media*, nível de formação académica e interesse pela sua própria saúde, contribuindo ativamente para a subvalorização do farmacêutico.

Ao longo do estágio, foram recorrentes as situações em que o próprio utente avaliava os seus sinais e sintomas, diagnosticava e solicitava um produto específico que, segundo a sua avaliação, seria o ideal para tratar a sua condição. Normalmente, os medicamentos requeridos eram MSRMs, como antibióticos, inibidores da bomba de prótons, anti-inflamatórios e analgésicos, sem consciência dos efeitos nefastos que estes poderão apresentar em casos de uso impróprio.

A procura de informação, por parte do utente, em fontes mais acessíveis, que normalmente se caracterizam pela baixa fiabilidade, influencia a sua opinião relativamente aos tratamentos, comprometendo a adesão à terapêutica e o próprio aconselhamento farmacêutico. Assim, enquanto estagiário e futuro farmacêutico procurei e procurarei transmitir informações baseadas no conhecimento científico, do qual sou detentor, com a finalidade de educar e clarificar as dúvidas e crenças dos utentes, combatendo a desinformação e promovendo o uso racional do medicamento.

1.4.2. Locais de venda de MSRMs

Os medicamentos não sujeitos a receita médica para uso humano, podem ser vendidos ao público fora das farmácias em locais que cumpram os requisitos legais e regulamentares, tal como é estabelecido no Decreto-Lei n.º 134/2005 de 16 de agosto [24]. Isto representa uma ameaça constante, uma vez que desloca grande parte dos utentes a esses locais, onde, normalmente, os preços praticados são mais baixos e os *packs* promocionais mais apelativos. A facilidade com que a população adquire medicamentos nestes locais, cedidos por profissionais sem formação necessária para o efeito, contribui para a banalização da farmácia e do farmacêutico, no sentido em que retira credibilidade a quem é detentor de formação académica adequada para aconselhar e clarificar dúvidas relacionadas com o medicamento.

Desta forma, a farmácia encontra aqui alguns desafios, dos quais destaco a consciencialização para o uso correto e responsável do medicamento e a prática de preços competitivos com os que são exercidos nos locais de venda de MSRMs, sendo que este último nem sempre é conseguido devido ao descontrolo económico que poderá causar na farmácia.

2. CONCLUSÃO

O MICF prima pela sua abrangência nos conteúdos programáticos e, na generalidade, compreende todas as ferramentas necessárias para o bom desempenho no estágio curricular. O mesmo possibilita a aquisição de diversos conhecimentos nas mais variadas áreas de atuação, sendo que a consolidação de conteúdos teóricos e práticos, ao fim de 6 meses na prática profissional, é inegável. Além do enriquecimento científico, pude desenvolver as minhas capacidades de comunicação, conhecer e relacionar-me de forma empática com os utentes, permitindo-me prestar um aconselhamento de uma forma mais confiante.

No presente relatório, procurei, de forma concisa, mencionar os pontos de maior relevância, focando-me essencialmente na atividade farmacêutica e na apresentação de casos práticos, onde procurei apresentar uma panóplia de situações reais que espelham a diversidade e amplitude de conhecimentos adquiridos ao longo desta formação académica, assim como a importância do farmacêutico, como agente de saúde pública, na sociedade.

A equipa técnica da Farmácia Torres Padilha foi um grande apoio nesta etapa e proporcionou-me uma formação completa sobre todas as tarefas a realizar numa farmácia de oficina, o que me permitiu reunir as bases necessárias para ser um bom profissional saúde na área.

3. BIBLIOGRAFIA

- [1] WHO (World Health Organization). **Joint FIP/WHO guidelines on good pharmacy practice: standards for quality of pharmacy services.** *WHO Tech. Rep. Ser.*, vol. Annex 8, no. 961, pp. 310–323, 2011. [Consultado a 17 de fevereiro de 2022]. Disponível em: <https://www.who.int/docs/default-source/medicines/norms-and-standards/guidelines/distribution/trs961-annex8-fipwhoguidelinesgoodpharmacypractice.pdf>
- [2] Kehrer, J. P., Eberhart, G., Wing, M., & Horon, K. (2013). **Pharmacy's role in a modern health continuum.** *Canadian pharmacists journal: CPJ = Revue des pharmaciens du Canada: RPC*, 146(6), 321–324. <https://doi.org/10.1177/1715163513506370>
- [3] Ordem dos Farmacêuticos. **Norma Geral de Preparação Individualizada de Medicação.** pp. 1–21, 2018. [Consultado a 10 de março de 2022]. Disponível em: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/norma_pim_vfinal_30_nge_00_010_02_1834827175bf58d479434f.pdf
- [4] VALORMED. **VALORMED - Quem Somos.** [Consultado a 18 de março de 2022] Disponível em: <https://www.valormed.pt/paginas/2/quem-somos/>
- [5] Santos, L. H., Araújo, A. N., Fachini, A., Pena, A., Delerue-Matos, C., & Montenegro, M. C. (2010). **Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment.** *Journal of hazardous materials*, 175(1-3), 45–95. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.100>
- [6] Ordem dos Farmacêuticos. **Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos.** *Ordem dos Farm.*, pp. 1–9, 1998. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/regulamento/1015-2021-176147634>
- [7] Ministério da Saúde - **Decreto-Lei n.º 95/2004, Série I-A de 2004-04-22** [Consultado a 17 de fevereiro de 2022]. [Consultado a 9 de fevereiro de 2022] Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/decreto-lei/95-2004-223251>
- [8] Ordem dos farmacêuticos. **Norma específica sobre manipulação de medicamentos.** pp. 1–9, 2018. [Consultado a 17 de fevereiro de 2022] Disponível em: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/of.c_n006_00_norma_especifica_sobre_manipulacyayo_de_medicamentos_20991760195afd9cafc3f20.pdf
- [9] Karthikeyan K. (2005). **Treatment of scabies: newer perspectives.** *Postgraduate*

- medical journal*, 81(951), 7–11. <https://doi.org/10.1136/pgmj.2003.018390>
- [10] Adriztina, I., Adenin, L. I., & Lubis, Y. M. (2018). **Efficacy of Boric Acid as a Treatment of Choice for Chronic Suppurative Otitis Media and Its Ototoxicity**. *Korean journal of family medicine*, 39(1), 2–9. <https://doi.org/10.4082/kjfm.2018.39.1.2>
- [11] Jones C. G. (1997). **Chlorhexidine: is it still the gold standard?**. *Periodontology* 2000, 15, 55–62. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1997.tb00105.x>
- [12] Ebner, F., Heller, A., Rippke, F., & Tausch, I. (2002). **Topical use of dexpanthenol in skin disorders**. *American Journal of Clinical Dermatology*, 3(6), 427–433. <https://doi.org/10.2165/00128071-200203060-00005>
- [13] Regnard, C., Twycross, R., Mihalyo, M., & Wilcock, A. (2011). **Loperamide**. *Journal of pain and symptom management*, 42(2), 319–323. <https://doi.org/10.1016/j.jpainsymman.2011.06.001>
- [14] Bindu, S., Mazumder, S., & Bandyopadhyay, U. (2020). **Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective**. *Biochemical pharmacology*, 180, 114147. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114147>
- [15] Argoff, C. E., & Gloth, F. M. (2011). **Topical nonsteroidal anti-inflammatory drugs for management of osteoarthritis in long-term care patients**. *Therapeutics and clinical risk management*, 7, 393–399. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S24458>
- [16] Cavadas, L., e Ribeiro, L. (2011). **Abordagem da insónia secundária do adulto nos Cuidados de Saúde Primários**. *Acta Med. Port.*, vol. 24, no. 1, pp. 135–144, 2011.
- [17] Committee on Herbal Medicinal Products. **Community herbal monograph on *Rhodiola rosea* L., rhizoma et radix**. *Eur. Med. Agency*, vol. 44, no. March, 2012. [Consultado a 19 de maio de 2022]. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/final-community-herbal-monograph-rhodiola-rosea-first-version_en.pdf
- [18] Anghelescu, I. G., Edwards, D., Seifritz, E., & Kasper, S. (2018). **Stress management and the role of *Rhodiola rosea*: a review**. *International Journal of psychiatry in clinical practice*, 22(4), 242–252. <https://doi.org/10.1080/13651501.2017.1417442>

- [19] Guadagna, S., Barattini, D. F., Rosu, S., & Ferini-Strambi, L. (2020). **Plant Extracts for Sleep Disturbances: A Systematic Review**. Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM, 2020, 3792390. <https://doi.org/10.1155/2020/3792390>
- [20] Brzezinski, A., Vangel, M. G., Wurtman, R. J., Norrie, G., Zhdanova, I., Ben-Shushan, A., & Ford, I. (2005). **Effects of exogenous melatonin on sleep: a meta-analysis**. Sleep medicine reviews, 9(1), 41–50. <https://doi.org/10.1016/j.smr.2004.06.004>
- [21] Wesnes, K. A., Ward, T., McGinty, A., & Petrini, O. (2000). **The memory enhancing effects of a Ginkgo biloba/Panax ginseng combination in healthy middle-aged volunteers**. Psychopharmacology, 152(4), 353–361. <https://doi.org/10.1007/s002130000533>
- [22] Ratan, Z. A., Youn, S. H., Kwak, Y. S., Han, C. K., Haidere, M. F., Kim, J. K., Min, H., Jung, Y. J., Hosseinzadeh, H., Hyun, S. H., & Cho, J. Y. (2021). **Adaptogenic effects of Panax ginseng on modulation of immune functions**. Journal of ginseng research, 45(1), 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2020.09.004>
- [23] Nanda, M. S., Mittal, S.P., Gupta, V. **Role of honey as adjuvant therapy in patients with sore throat**. National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology, 7 (4), 412-415. doi:10.5455/njppp.2017.7.1233125122016
- [24] Ministério da Saúde. **Decreto-Lei n.º 134/2005 de 16 de Agosto**. *Diário da República*, vol. 1ª Série, no. 156, pp. 4763–4765, 2005. [Consultado a 25 de abril de 2022]. Disponível em: https://www.infarmed.pt/documents/15786/1068384/035-B_DL_134_2005_3Alt.pdf

4. ANEXOS

Anexo I - Ficha de Preparação de Medicamento Manipulado, mais concretamente a pomada de vaselina com enxofre a 6%, realizado na Farmácia Torres Padilha.

Farmácia Torres Padilha
 Dra M^ª Alcina T.P.S. Lopes D. Cravo
 Av Dr. José Maria Cardoso, Lj 1
 3200-202 Loures
 Tel: 239 971 106
 NIF: 506 441 702
 (Cartão de Identificação)

Ficha de Preparação

Medicamento: Vaselina com enxofre a 6%.

Teor em substância(s) activa(s): 100 g (ml ou unidades) contém 6 g (ml) de enxofre

Forma farmacéutica: Pomada Data de preparação: 22/03/2022

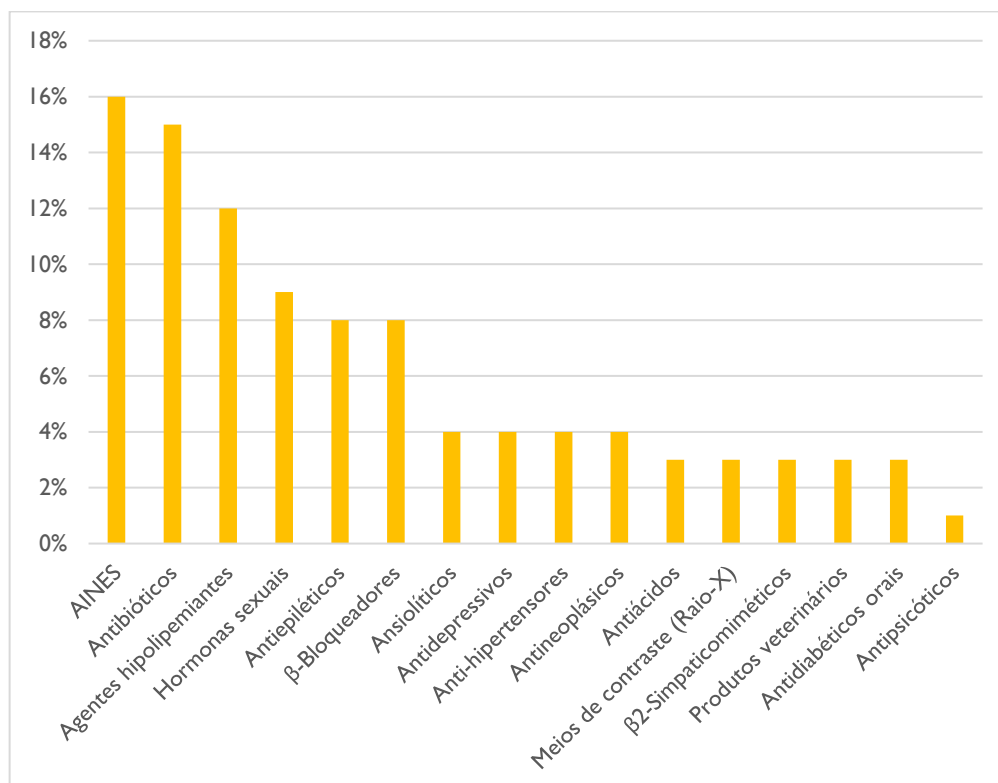
Número do lote: 03/22 Quantidade a preparar: 400g

Matérias-primas	Lote n ^o	Origem	Farmacopeia	Quantidade para 100 g (ou ml, ou unidades)	Quantidade calculada	Quantidade pesada	Rubrica do Operador e data	Rubrica do Supervisor e data
vaselina solida	15-0681 21	Labchem	FP8		376g	376g	Ctes 22/03/22	
Enxofre	000705 00415	J. Heures Sambisida	FP8		24g	24g	Ctes 22/03/22	

Preparação	Rubrica do Operador
1. Limpe a placa de mármore e espátulas com álcool	Ctes
2. Pesagem de todos os materiais primos.	Ctes
3. Promoveur a vaselina para a placa de mármore e adicione aos poucos o enxofre	Ctes
4. Espátule até obtenção de uma pomada homogênea	Ctes
5. acondicione em recipiente apropriado.	Ctes
6. Lave e seque todo o material utilizado	Ctes

Rubrica do Director Técnico	Data
-----------------------------	------

Anexo 2 - Percentagem relativa das classes terapêuticas detetadas no ambiente. Adaptado de [5].



Parte II

MONOGRAFIA

**“POTENCIAL TERAPÊUTICO DA METFORMINA
NA DOENÇA DE ALZHEIMER”**

ABREVIATURAS

- 18-FDG**- 18F-fluorodesoxiglicose
- AAC**- Angiopatia Amiloide Cerebral
- ACC**- Acetil CoA Carboxilase
- AChE**- Acetilcolinesterase
- ADAD**- *Autosomal Dominant Alzheimer Disease*
- ADP**- *Adenosine diphosphate*
- AGE**- *Advanced glycation end product*
- AICD**- *Amyloid Precursor Protein Intracellular Domain*
- AINES**- Anti-Inflamatórios Não Esteroides
- AMP**- *Adenosine monophosphate*
- AMPK**- *AMP-activated protein kinase*
- ApoE**- Apolipoproteína E
- APP**- *Amyloid Precursor Protein*
- ATP**- *Adenosine triphosphate*
- A β** - Peptídeo β -amiloide
- BACE1**- *β -Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1*
- BDNF**- *Brain-Derived Neurotrophic Factor*
- BHE**- Barreira Hematoencefálica
- cAMP**- *Cyclic adenosine monophosphate*
- CCL11**- *C-C Motif Chemokine Ligand 11*
- cdk5**- *cyclin-dependent kinase 5*
- Cmax**- Concentração máxima plasmática
- COX-2**- Ciclo-oxigenase 2
- CREB**- *cAMP Response Element-Binding Protein*
- CRTC2**- *CREB Regulated Transcription Coactivator 2*
- CTF**- *C-Terminal Fragment*
- DA**- Doença de Alzheimer
- DAMP**- *Damage-Associated Molecular Pattern*
- DHA**- *Dehydroascorbic acid*
- DLB**- *Dementia with Lewy Bodies*
- DM2**- Diabetes Mellitus tipo 2
- EOAD**- *Early-Onset Alzheimer Disease*
- ERK1/2**- *Extracellular signal-regulated kinase 1/2*

G6Pase- Glucose-6-Fosfatase
GLP-I - *Glucagon-like peptide-1*
GLUT-I- *Glucose transporter 1*
GPx- Glutaciona Peroxidase
GSH- Glutaciona Reduzida
GSK3 β - *Glycogen synthase kinase-3 beta*
HIF-1 α - *Hypoxia-inducible factor 1-alpha*
IL- Interleucina
kDA- Quilodalton
LCR- Líquido Cefalorraquidiano
LOAD- *Late-onset Alzheimer's disease*
MAP- *Microtubule Associated Protein*
MAPT- *Microtubule Associated Protein Tau*
MHC- *Major Histocompatibility Complex*
MTBD- *Microtubule Binding Domain*
mTOR- *mammalian Target of Rapamycin*
NAD⁺-Dinucleótido de nicotinamida e adenina oxidado
NADH- Dinucleótido de nicotinamida e adenina reduzido
NF- κ B- *Nuclear Factor kappa B*
NFTs- *Neurofibrillary Tangles*
NMDA- N-metil D-Aspartato
NOX-2- NADPH oxidase 2
OCT- *Organic Cation Transporter*
PI3k- *Phosphatidylinositol 3-Kinase*
PAMP- *Pathogen-Associated Molecular Pattern*
PCR- Proteína C reativa
PET- *Positron Emission Tomography*
PGC-1 α - *Peroxisome Proliferator-activated receptor-gamma Coactivator-1 α*
PKA- *Protein kinase A*
PP2A- *Protein phosphatase 2*
PRD- *Proline-Rich Domain*
PRR- *Pattern recognition receptor*
RAGE- *Receptor for Advanced Glycation end Products*
RMN- Ressonância Magnética Nuclear

RNA- *Ribonucleic Acid*
ROS- *Reactive Oxygen Species*
sAPP- *Soluble Amyloid Precursor Protein*
SLC- *Solute carrier*
SNC- *Sistema Nervoso Central*
SNP- *Sistema Nervoso Periférico*
SOD- *Superóxido Dismutase*
SREBP-I- *Sterol regulatory element-binding protein I*
SRs- *Scavenger Receptors*
TLRs- *Toll-Like Receptors*
TNF- α - *Tumor Necrosis Factor alfa*
t-tau- *Proteína Tau Total*
Vd- *Volume de distribuição*

RESUMO

A Doença de Alzheimer (DA) é a causa mais comum de demência, caracterizada pelo agravamento progressivo do declínio cognitivo e, histologicamente, por diversos achados como a presença de placas senis e novos neurofibrilares, constituídos por proteínas que adquirem funções neurotóxicas como o péptido β -amiloide e proteína tau. A formação destas estruturas a nível cerebral suporta as hipóteses mais aceites atualmente para a etiologia da doença, nomeadamente a cascata β -amiloide e a hiperfosforilação da proteína tau. No entanto, tratando-se de uma doença multifatorial, a complexidade das vias de sinalização que culminam na patogénese da doença é evidente, estando associada cada vez mais a uma resposta exacerbada por parte das células do sistema imunitário residentes no sistema nervoso central face às alterações estruturais e bioquímicas.

As terapêuticas atualmente disponibilizadas para a DA estão idealizadas apenas para melhorar os sintomas, não atuando nos mecanismos responsáveis pelo aparecimento da doença. A busca de novos tratamentos mais eficazes configura-se como uma necessidade devido à grande prevalência que se espera que a DA venha a atingir. Deste modo, o estudo dos mecanismos de ação de fármacos existentes permite acelerar o processo de inclusão de uma determinada terapêutica no mercado, o chamado “drug repurposing”.

A metformina, um antidiabético não insulínico, demonstrou diminuir a incidência de demência em indivíduos diabéticos, o que a torna um alvo interessante para o tratamento de determinadas patologias neurodegenerativas, como a DA. A sua capacidade para inibir a hiperfosforilação de proteínas, reduzir o stress oxidativo e neuroinflamação, decorrentes, principalmente, de vias de sinalização no seguimento da inibição do complexo I da cadeia respiratória mitocondrial, proporcionam características neuroprotetoras à metformina.

A controvérsia do tema, devido à obtenção de dados discordantes, não só pela complexidade da etiologia da DA, mas também, devido ao vasto mecanismo de ação da metformina, reforçam a necessidade de estudos robustos que suportem as vantagens da sua utilização na DA.

Palavras-chave: Demência, Doença de Alzheimer, peptídeo β -amiloide, proteína tau, metformina, mitocôndria, neuroinflamação.

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia, characterized by the progressive aggravation of cognitive decline and, histologically, by several findings such as the presence of senile plaques and neurofibrillary tangles, constituted by proteins that acquire neurotoxic functions such as the peptide β -amyloid and tau protein. The formation of these structures at the brain level supports the most accepted hypotheses for the etiology of the disease, namely the β -amyloid cascade and the hyperphosphorylation of the tau protein. However, as it is a multifactorial disease, the complexity of the signaling pathways that culminate in the pathogenesis of the disease is evident, being increasingly associated with an exacerbated response by the central nervous system's immune cells due to structural and biochemical changes.

Current available therapies for AD are only designed to improve symptoms, not acting on the mechanisms responsible for the onset of the disease. The search for new and more effective treatments is a necessity due to the high prevalence that AD is expected to reach. In this way, studying the mechanisms of action of existing drugs allows accelerating the process of including a particular therapy on the market, so-called "drug repurposing".

Metformin, a non-insulin antidiabetic agent, has been shown to decrease the incidence of dementia in diabetic individuals, which makes it an interesting target for the treatment of certain neurodegenerative pathologies, such as AD. Its ability to inhibit protein hyperphosphorylation, oxidative stress and neuroinflammation, resulting mainly from signaling pathways following the inhibition of complex I of the mitochondrial respiratory chain, provide neuroprotective characteristics to metformin.

The controversy on the subject, due to discordant data, not only because of the complexity of the AD etiology, but also due to the vast mechanism of action of metformin, reinforce the need for robust studies that support the advantages of its use in AD.

Keywords: Dementia, Alzheimer's Disease, β -amyloid peptide, tau protein, metformin, mitochondria, neuroinflammation.

I. INTRODUÇÃO

A Demência engloba várias doenças, na sua maioria, progressivas, ocorrendo um declínio na memória, na cognição e no comportamento, que interferem negativamente no cotidiano da população. Representa uma das principais causas de incapacidade e dependência entre os idosos, causando impacto não só nos indivíduos portadores desta condição, mas também, nos seus cuidadores e familiares. Atendendo ao aumento da esperança de vida, espera-se, igualmente, um aumento na prevalência destas patologias, devido às consequências do processo de envelhecimento[1].

A Doença de Alzheimer é a forma mais comum de demência, representando 60% a 70% dos casos [1]. É caracterizada por alterações a nível cerebral como a presença de placas constituídas por péptido β -amiloide, novos neurofibrilares compostos por proteína tau hiperfosforilada e neuroinflamação que contribuem ativamente para a disfunção sináptica e perda progressiva de neurónios. Como consequência ocorre declínio cognitivo e alterações na memória e no comportamento, cuja gravidade depende da progressão da doença.

A metformina é o antidiabético não insulínico mais prescrito para o tratamento da Diabetes *Mellitus* Tipo 2, contudo, foi recentemente associada à diminuição do risco cardiovascular, redução da lipogénese hepática, restauração da função ovárica na síndrome do ovário policístico e à redução do *stress* oxidativo [2]. Paralelamente, a melhoria dos sinais clínicos associados à demência e ao declínio cognitivo foram notificadas como possíveis ações da metformina. O vasto mecanismo de ação da metformina não se encontra totalmente descrito, apesar das décadas de utilização na prática clínica, constituindo uma barreira ao estudo da sua atuação na Doença de Alzheimer.

Pretende-se, com esta monografia, abordar as hipóteses etiológicas mais aceites para o desenvolvimento da doença de Alzheimer, fatores de risco que aumentem a suscetibilidade à patologia e, concomitantemente, aprofundar o mecanismo de ação da metformina. Deste modo, serão discutidas possíveis vias pelas quais a metformina tem a capacidade para atuar na Doença de Alzheimer.

2. DEMÊNCIA

2.1 Definição, epidemiologia e etiologia

A demência descreve um grupo de doenças que se caracterizam por um conjunto de sinais e sintomas como o declínio das funções cognitivas, perda de memória, dificuldade de expressão, falta de concentração e alterações no humor, que afetam negativamente o dia-a-dia dos portadores desta condição, bem como a forma como interagem socialmente. A demência é causada por diversas alterações nos neurónios e no ambiente que os envolve o que resulta na disfunção das células nervosas, aquisição de funções tóxicas e morte celular [3].

A demência apresenta-se como um problema de saúde pública, sendo que dados de 2019 estimam que, mundialmente, cerca de 47 milhões de indivíduos sofram desta condição e que este número poderá atingir os 131 milhões no ano de 2050. Embora exista uma redução da incidência da demência nos últimos anos, registada nos Estados Unidos, a sua prevalência situa-se nos 15% em indivíduos com idade superior a 68 anos [4].

De acordo com a sua etiologia, as demências podem ser classificadas como primárias ou degenerativas e secundárias. As primárias ou degenerativas, como a própria denominação sugere, resultam de processos neurodegenerativos em que existem alterações e lesão a nível dos neurónios, como é o caso da Doença de Alzheimer, demência com Corpos de Lewy, demência frontotemporal e demência vascular. A demência secundária é resultante de outras doenças tais como traumatismo craniano, infeções no sistema nervoso, tumores cerebrais, intoxicações, deficiências nutricionais, entre outras situações que possam levar ao declínio cognitivo [5][6].

Avaliando a sua reversibilidade, esta está diretamente relacionada com a etiologia da demência, podendo apresentar um carácter irreversível, ou reversível, denominando-se, neste último caso, pseudodemência. O primeiro caso envolve processos de neurodegeneração, estando associado às demências primárias. Por outro lado, as reversíveis, apesar de serem relativamente raras, podem surgir no seguimento de deficiências nutricionais (vitamina B12), depressão, distúrbios endócrinos ou metabólicos, lesões cerebrais que possam ser reversíveis, como os tumores e, ainda, a demência resultante da administração de alguns medicamentos (anticolinérgicos, psicotrópicos, analgésicos e sedativos) [6].

Os diferentes tipos de demência estão associados a sintomas e alterações cerebrais distintas, pelo que o estudo das possíveis anomalias estruturais é crucial para classificar o tipo de demência [3]. Contudo, resultados de autópsias de cérebros de doentes com idade

avançada revelam anormalidades relacionadas com mais do que um tipo de demência, a denominada demência mista. Desta forma, é adicionado um novo nível de complexidade no que concerne ao diagnóstico e tratamento das patologias neurodegenerativas. [3][5] Os casos de demência mista combinam, normalmente, a Doença de Alzheimer (DA) com a demência vascular, seguindo-se a DA com a Demência com Corpos de Lewy (*Dementia with Lewy Bodies*, DLB) e a DA com a demência vascular e DLB. [3]

3. DOENÇA DE ALZHEIMER

3.1. Introdução

A Doença de Alzheimer (DA) é a forma mais comum de demência e a sua designação deve-se ao neuropsiquiatra Alois Alzheimer, que em 1907 examinou o cérebro de uma mulher de 51 anos com um quadro de demência desconhecida, de instalação insidiosa e agravamento progressivo. Apresentava perda de memória, dificuldade de expressão, desorientação, alucinações e alterações histológicas, tais como placas senis e novos neurofibrilares (*Neurofibrillary tangles*, NFT) no córtex cerebral [7]. As pesquisas posteriores a esta descoberta revelaram um padrão consistente entre a presença de placas constituídas por péptido β -amiloide insolúvel e NFT, sugerindo que estas alterações patológicas estariam na origem da DA [8].

A Doença de Alzheimer é uma doença multifatorial e progressiva, que pode ter diversas denominações consoante a idade em que aparecem os sintomas associados. A maioria dos indivíduos, cerca de 95% (5 milhões), que sofrem desta patologia têm uma idade superior a 65 anos, sendo por isso denominada DA de início tardio (*Late-onset Alzheimer's disease*, LOAD). O aparecimento em indivíduos com menos de 65 anos é consideravelmente mais raro e ocorre em menos de 5% dos casos relatados de DA, sendo denominada DA de início precoce (*Early-Onset Alzheimer Disease*, EOAD) e está normalmente associada a determinadas mutações em genes que codificam proteínas com um papel preponderante na fisiopatologia da doença [7][9]. Aproximadamente 1-2% da DA é herdada de forma autossómica dominante (*Autosomal Dominant Alzheimer Disease*, ADAD) e pode apresentar-se na forma de EOAD com uma taxa de progressão mais rápida [9].

Diversas estatísticas indicam que a partir dos 65 anos de idade, a cada 5 anos, o risco para o desenvolvimento desta doença duplica, refletindo, deste modo, o principal fator de risco, a idade [10] e que no ano de 2050 ocorrerá um novo caso de DA a cada 33 segundos ou quase 1 milhão por ano, com uma prevalência estimada de 13.8 milhões [8].

3.2. Manifestações pré-clínicas e clínicas

A doença tem um carácter insidioso, progredindo sem marcos nítidos, pelo que a divisão da evolução da doença nem sempre é fácil. Contudo, pode ser dividida em 4 fases, nomeadamente, as fases pré-clínica, inicial, moderada e severa.

A fase pré-clínica é caracterizada por um defeito suave na memória, em que apenas o doente percebe algumas alterações, principalmente ao nível da sua compreensão. Podem ocorrer alterações no córtex e hipotálamo, mas que não têm impacto no dia-a-dia do paciente, não existindo, por isso, sintomas evidentes de DA [10].

Na fase inicial, com a progressão da doença, os sintomas começam a causar distúrbios na rotina do paciente, com falta de concentração, perda mais evidente de memória e desorientação. Os doentes sentem dificuldade em planear e executar tarefas mais complexas e a degradação da linguagem é evidente, sintomas que deixam os pacientes mais ansiosos e deprimidos. Os défices são percebidos pelos familiares, que se tornam mais apreensivos [10].

A fase moderada caracteriza-se pelo agravamento do défice cognitivo. As alterações histopatológicas espalham-se pelo córtex cerebral e, conseqüentemente, têm dificuldade em reconhecer os familiares e amigos e a sua linguagem e escrita ficam altamente deteriorados. Os doentes apresentam alterações no comportamento e evidenciam outros sintomas psiquiátricos como a melancolia alternada com episódios de agressividade, alucinações e ideias paranoides [10].

A última fase da DA denomina-se severa ou terminal, onde o défice de memória é extremamente grave, não existe retenção de informação, o discurso é fragmentado e não existe reconhecimento dos familiares mais próximos. O doente, normalmente, está acamado e perde a capacidade de deglutir os alimentos de forma conveniente e torna-se incontinente [10].

3.3. Fisiopatologia da DA

Macroscopicamente, são relatadas alterações como a atrofia da área cortical e subcortical, resultantes da acentuação dos sulcos corticais, aumento do espaço subaracnoideu e dilatação dos ventrículos cerebrais [11]. Relativamente à histopatologia, a acumulação de péptido β -amiloide insolúvel em placas senis e a formação de novos neurofibrilares (NFT), constituídos, essencialmente, por proteína Tau hiperfosforilada, são consideradas as maiores causas de neurodegeneração e progressão da doença [7]. Contudo, é cada vez mais unânime o papel relevante de outros fatores como a neuroinflamação e stress oxidativo na fisiopatologia da doença [10].

3.3.1. Hipótese da cascata β -amiloide

Atualmente, a hipótese da cascata β -amiloide continua a ser o modelo explicativo mais aceite para descrever a etiologia da doença de Alzheimer. Esta hipótese afirma que a deposição de péptido β -amiloide ($A\beta$) no parênquima cerebral desencadeia uma cascata de eventos químicos que culminam no desenvolvimento da demência presente na DA [12].

O $A\beta$ é um pequeno peptídeo hidrofóbico, com cerca de 4 KDa, que surge na sequência da clivagem proteolítica da proteína precursora amiloide (*Amyloid Precursor Protein*, APP), uma proteína transmembranar do tipo I [13]. A APP está localizada no cromossoma 21 e, ao sofrer *splicing* alternativo, origina três isoformas: APP695, APP751 e APP770, sendo que a APP695 é expressa em maior quantidade nos neurónios [14]. Esta é constituída por um grande ectodomínio (N-terminal), um domínio transmembranar hidrofóbico e um domínio intracelular (C-terminal) [13] e revela funções fisiológicas cruciais, como na sobrevivência e crescimento celular, motilidade e libertação de proteínas solúveis a partir da sua clivagem. [7]. Da clivagem da APP podem surgir diversos isómeros de $A\beta$, variando no número de aminoácidos que a constitui, pelo que, assim, a isoforma mais prevalente é a $A\beta_{40}$, seguindo-se a $A\beta_{42}$, que é mais hidrofóbica e tende a agregar e polimerizar-se com maior facilidade, tendo, por isso, uma maior toxicidade neuronal [13] [15]. Curiosamente, mutações em genes que codificam proteínas ou componentes que interagem nos mecanismos de clivagem da APP, são normalmente associados a um aumento da razão $A\beta_{40}/A\beta_{42}$, promovendo o potencial de agregação do péptido [15].

A APP pode ser clivada por duas vias distintas: a via não amiloidogénica e a via amiloidogénica, conduzindo à formação de diferentes produtos, com funções discrepantes (**Figura I**).

- **Via não amiloidogénica**

A via não amiloidogénica é, normalmente, a via de clivagem da APP, onde esta sofre uma clivagem sequencial das enzimas α - e γ -secretases, originando diversos produtos solúveis não patogénicos. A APP é clivada pela α -secretase entre os resíduos 16 e 17 do domínio $A\beta$, resultando dois fragmentos, sAPP α (*Soluble Amyloid Precursor Protein- α*) e CTF α (*C-terminal fragment α*). O sAPP α é secretado e atua como fator neurotrófico e o CTF α é internalizado e degradado. O fragmento CTF α , pode, ainda, sofrer proteólise enzimática pela γ -secretase, originando o péptido não amiloidogénico (p3), que tem um papel importante na sinalização sináptica, embora ainda por elucidar [7] [16]. Desta clivagem resulta, ainda, a AICD (*Amyloid Precursor Protein Intracellular Domain*, AICD) que, ao translocar-se para o

núcleo, tem a capacidade de regular a expressão génica e ativar genes pró-apoptóticos [17]. Desta forma, a via não amiloidogénica não proporciona a formação de A β , não havendo agregação e consequente formação de placas amiloides [13].

▪ Via amiloidogénica

A via amiloidogénica resulta na produção de A β insolúvel que, uma vez libertado para o espaço extracelular, atua como um potente neurotóxico, normalmente direcionado a neurónios específicos do hipocampo [18]. A proteólise da APP pela BACE-1 (*β -Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1*), uma enzima β -secretase, no N-terminal do domínio A β , origina dois fragmentos distintos, a sAPP β (*Soluble Amyloid Precursor Protein- β*) e o CTF β (*C-terminal fragment β*) ou C99, constituído essencialmente pelo domínio A β e C-terminal da APP. O CTF β é, posteriormente, o substrato da γ -secretase ocorrendo a formação de A β (40/42) e AICD. A clivagem por múltiplas γ -secretases pode resultar em heterogeneidade do terminal-C da A β para formar diferentes isómeros de A β , como a A β 40 e A β 42 [16].

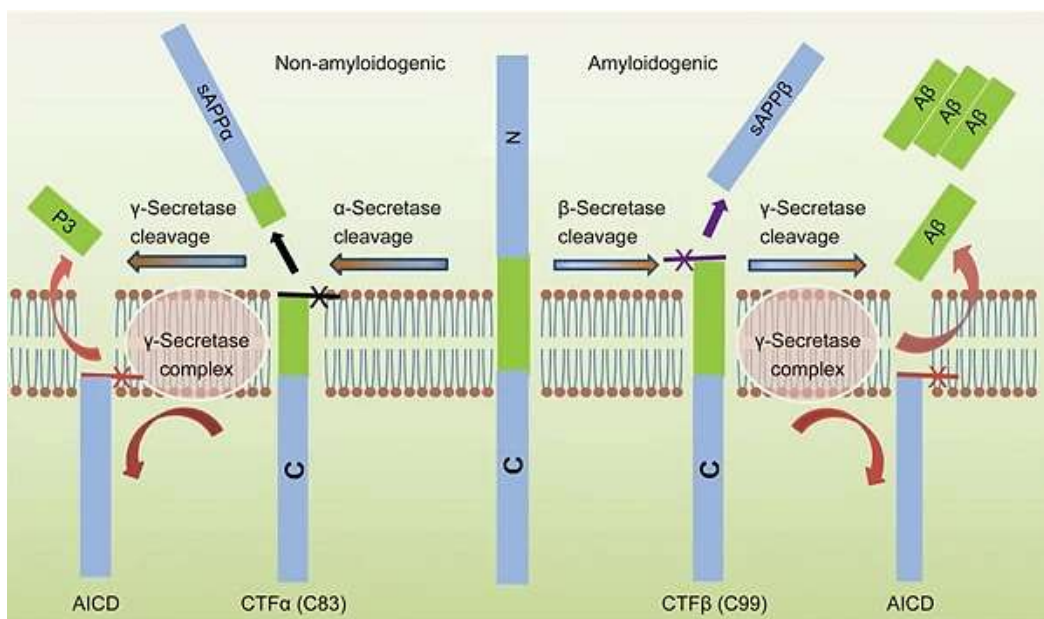


Figura 1 – Clivagem proteolítica da APP pela via não amiloidogénica e pela via amiloidogénica [17].

3.3.2. Hiperfosforilação da proteína tau

A Doença de Alzheimer pertence a um grupo de patologias denominadas taupatias, que são caracterizadas histologicamente pela hiperfosforilação de uma proteína associada aos microtúbulos (*Microtubule associated protein - MAP*), a tau. A formação de novos neurofibrilares (NFT), constituídos essencialmente por tau hiperfosforilada, é requerida para a apresentação clínica da DA [19].

A tau é uma proteína hidrofílica, codificada pelo gene MAPT (*Microtubule Associated Protein Tau*) presente no cromossoma 17 que, na sua forma nativa, é desdobrada e está presente nos axónios dos neurónios. O *splicing* alternativo do gene MAPT produz 6 isoformas no Sistema Nervoso Central (SNC) e 6 isoformas adicionais no Sistema Nervoso Periférico (SNP), cujos pesos moleculares podem variar de 58 kDa a 66kDa e uma isoforma de 110 kDa [20].

A proteína é composta por quatro domínios primários, o domínio N-terminal, o domínio rico em prolina (*Proline-Rich Domain*, PRD), o domínio de ligação a microtúbulos (*Microtubule Binding Domain*, MTBD) e a região C-terminal. O *splicing* alternativo dos domínios N-terminal e de ligação aos microtúbulos produz seis isoformas no SNC. Os domínios repetidos R1, R3 e R4 são constitutivos, enquanto R2 é incorporado apenas nas três isoformas 4R. Os domínios N1 e N2 podem não ser apresentados, mas a inclusão de N2 requer que N1 esteja presente. As isoformas possíveis são então: 0N3R, 1N3R, 2N3R, 0N4R, 1N4R e 2N4R [20] (**Figura 2**). Em indivíduos saudáveis, a expressão das isoformas 3R e 4R são equilibradas, contudo, é relatada, em diversas taupatias, a alteração da razão 3R:4R [21]. No caso específico da doença de Alzheimer, esta não segue nenhum padrão, existindo um aumento da isoforma 3R tau em alguns casos, e 4R noutros [20].

A tau, na sua forma nativa, é uma proteína desdobrada e altamente solúvel que, ao interagir com a tubulina, promove a sua associação aos microtúbulos, estabilizando a estrutura dos axónios [21]. Estudos em roedores que apresentavam *knockout* desta proteína não apresentam um fenótipo grave, sugerindo que existe alguma atividade compensatória por outras proteínas associadas aos microtúbulos (MAP1A, MAP1B, MAP2, entre outras). Contudo, em humanos, os indivíduos portadores de deleções no gene MAPT revelam problemas no desenvolvimento do SNC [20].

A modificação pós-tradução da tau descrita com maior frequência é a fosforilação. No entanto, pode ocorrer a sua acetilação, isomerização, glicação, oxidação, entre outras modificações. Esta proteína contém 85 locais passíveis de fosforilação, incluindo 45 resíduos de serina, 35 de treonina e 5 de tirosina, que correspondem a 53%, 41% e 6% dos casos, respetivamente [22]. A fosforilação da proteína tau tem como consequência a diminuição da capacidade de ligação aos microtúbulos, o que leva à destabilização dos mesmos, induzindo a sua agregação em depósitos insolúveis, os NFTs. A situação descrita leva ao desenvolvimento de diversos eventos patológicos, tais como a deficiência no transporte axonal, disfunção sináptica e mitocondrial, perda neuronal e neurodegeneração [22].

Na DA, a hiperfosforilação da proteína tau pode aparecer de forma mais precoce relativamente às placas senis. No entanto, são vários os estudos que associam a formação de

placas A β como um acontecimento chave para o desenvolvimento da taupatia. Assim, a linha temporal dos mecanismos conducentes à neurodegeneração na Doença de Alzheimer permanecem por elucidar [20].

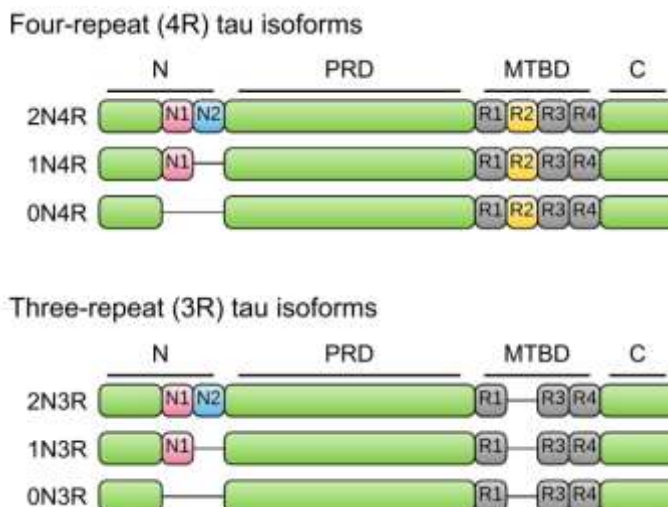


Figura 2 – Isoformas da proteína tau resultantes do *splicing* alternativo do gene MAPT.

3.3.3. Neuroinflamação

A neuroinflamação contribui significativamente para o desenvolvimento da DA e deve-se, principalmente, à ativação da microglia. O aumento de marcadores associados ao sistema imune inato e adaptativo, presentes no cérebro de pacientes com esta patologia, sugere a importância desta hipótese como um possível fator desencadeante da neurodegeneração. Recentemente, associou-se a existência de A β e p-tau à ativação da microglia e dos astrócitos cerebrais, com o recrutamento de células do sistema imunológico para os locais envolvidos, favorecendo um ambiente inflamatório, pelo que irá ser desenvolvido, principalmente, o contributo destas duas células no desenvolvimento da DA [23].

A microglia, células imunes presentes no SNC, têm uma função fundamental na manutenção da homeostase cerebral, plasticidade neuronal e regulam o número de sinapses funcionais, através da sinalização do fator neurotrófico derivado do cérebro (*Brain-Derived Neurotrophic Factor*, BDNF). Estas células expressam uma grande quantidade de recetores de reconhecimento de padrões (*Pattern recognition receptors*, PRRs), incluindo recetores semelhantes a Toll (*Toll-Like Receptors*, TLRs), recetores *scavenger* (*Scavenger Receptors*, SRs) e recetores para produtos finais de glicação avançada (*Receptors for Advanced Glycation end Products*, RAGEs) [23]. Após a ativação dos PRRs, devido a sinais exógenos (padrões moleculares associados a patógenos, PAMPs) e sinais endógenos (padrões moleculares associados a perigos, DAMPs), é desencadeada uma resposta através de cascatas distintas,

que provocam a ativação da microglia e a produção de múltiplos fatores pró-inflamatórios e neurotóxicos incluindo fator de necrose tumoral- α (*Tumor Necrosis Factor alfa*, TNF- α), óxido nítrico, interleucina-1, interleucina-1 β (IL-1 β) e interleucina 6 (IL-6) e espécies reativas de oxigênio (ROS), levando a *stress* oxidativo, danos progressivos nos neurónios e neurodegeneração [23] [24]. Os níveis elevados de IL-1 resultam no aumento da produção de APP e acumulação de A β e, adicionalmente, a IL-1 β leva ao aumento da expressão de IL-6, culminando na ativação da cdk5 e consequente hiperfosforilação da proteína tau [25] [26]. O TNF- α pode aumentar a produção de A β ao aumentar a expressão de β -secretase e, ainda, a atividade da γ -secretase [27] [28]. A ligação de oligómeros A β e proteína Tau aos PRRs leva à ativação da microglia e desencadeamento da cascata anteriormente mencionada, evidenciando a interligação entre as diferentes hipóteses para o desenvolvimento da patologia, demonstrando a complexidade da fisiopatologia da DA (**Figura 3**) [23].

Paralelamente, diversos estudos de Tomografia de Emissão de Positrões (Positron Emission Tomography, PET) correlacionaram a ativação da microglia *in vivo* com a carga amiloide cerebral e a gravidade dos défices cognitivos, bem como com a agregação β -amiloide e tau em pacientes DA [23].

No tecido cerebral de doentes com DA foram encontrados astrócitos ao redor de placas senis e em regiões de neurodegeneração, evidenciando a possível contribuição destas células no processo inflamatório e neurodegenerativo. A secreção de neurotoxinas solúveis e libertação de diversos componentes do sistema do complemento, incluindo C3, levam à disfunção sináptica. Além disso, o péptido A β consegue ativar a via do NF-KB em culturas astrogliais, aumentando a expressão de mRNA C3 (**Figura 3**), sendo que estes mediadores inflamatórios são encontrados em abundância nas análises *post-mortem* de pacientes com DA [23].

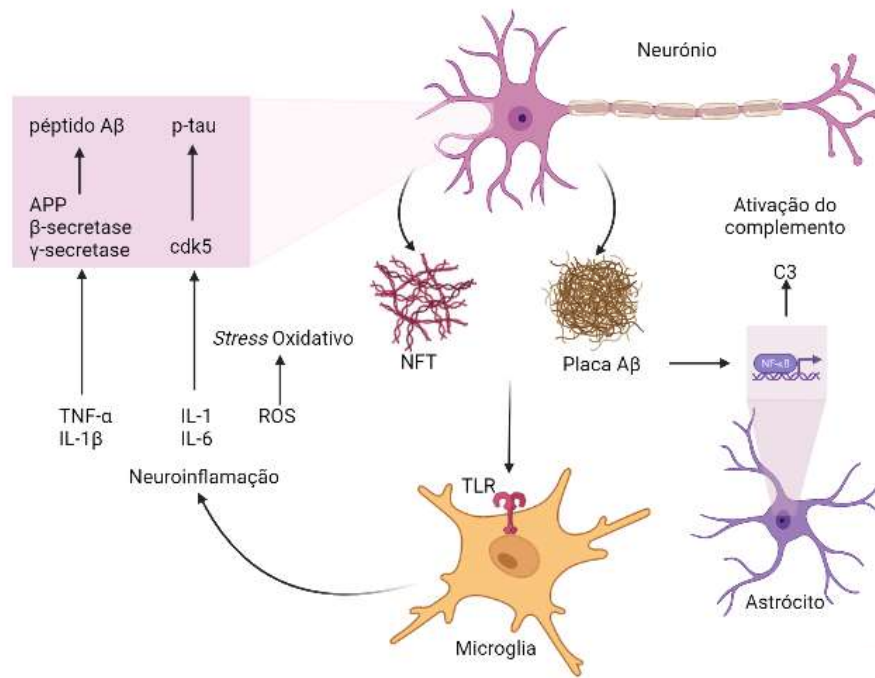


Figura 3 – Contributo da microglia e astrócitos cerebrais no desenvolvimento da neuroinflamação na Doença de Alzheimer. Adaptado de [23].

3.4. Fatores de risco

3.4.1. Fatores genéticos

Cerca de 70% do risco de desenvolver DA poderá ser atribuído à genética [29]. A EOAD ocorre, usualmente, devido a mutações autossómicas dominantes nos genes APP (proteína amiloide precursora), PSEN1 (presenilina 1) e PSEN2 (presenilina 2). A LOAD também apresenta uma forte componente genética, sendo que a presença do alelo 4 do gene ApoE foi identificado como o maior fator de risco genético para o desenvolvimento de LOAD [30].

A Apolipoproteína E (ApoE) é uma glicoproteína codificada pelo gene ApoE, localizado no cromossoma 19, e apresenta 3 isoformas resultantes de polimorfismo num único nucleótido (SNP), a ApoE2, ApoE3 e ApoE4 [29]. É altamente expressa no fígado, astrócitos e microglia e tem funções cruciais no metabolismo do colesterol, transporte de lípidos, controlo da inflamação, função sináptica e neurogénese [29] [30]. Estudos apontam para a capacidade de ligação da ApoE4 ao péptido Aβ e causar a sua deposição em placas senis, contribuindo, de forma adicional, para o desenvolvimento de danos vasculares no cérebro, nomeadamente, Angiopatia Amiloide Cerebral (AAC). Por sua vez, as isoformas ApoE2 e ApoE3 estão associadas a um efeito neuroprotetor ao relacionarem-se com a *clearance* eficaz do péptido Aβ [29]. Embora a presença do alelo ApoE4 não seja necessária

nem suficiente para o desenvolvimento do AD [15], são vários os estudos que apontam para uma associação entre o alelo ApoE4 e o desenvolvimento de ambas as formas de DA, a LOAD e EOAD [10].

Foram identificadas mais de trinta mutações no gene APP, sendo que 25 destas estão relacionadas com a DA e a acumulação excessiva de péptido A β insolúvel [10]. A maioria das mutações na APP e PSEN1 levam ao aumento da razão A β 42:A β 40. Esta desregulação favorece a deposição da A β no tecido do cérebro favorecendo a cascata amiloidogénica [29], uma vez que a A β 42 é relatada como tendo uma capacidade de agregação maior [30].

As mutações na PSEN1 estão associadas a 80% dos casos de EOAD, sendo que apenas 5% estão relacionadas com PSEN2 [29]. O gene PSEN1 está localizado no cromossoma 14 e é um componente crucial do complexo γ -secretase, que cliva a APP em fragmentos A β . Mais de duas centenas de mutações foram identificadas na PSEN1, sobretudo a nível dos exões 5,6,7,8. A maioria destas mutações são *missense* mas, no entanto, inserções e deleções também já foram relatadas. Nestas condições, o complexo γ -secretase favorece o aumento da razão A β 42:A β 40, culminando na maior deposição de A β no cérebro [30].

3.4.2. Fatores adquiridos

Os fatores adquiridos são diversos, a idade, como discutido anteriormente, desempenha um papel preponderante no desenvolvimento da DA. No entanto, outros fatores como as doenças cerebrovasculares, diabetes, hipertensão, obesidade e dislipidemia, matrimónio, *stress*, depressão e tabagismo revelaram estar relacionados com a génese da patologia.

- Doenças cerebrovasculares

Os acidentes vasculares cerebrais hemorrágicos e isquémicos são fatores conhecidos que aumentam o risco de vir a desenvolver DA, sendo que análises *postmortem* de cérebros de pacientes com DA indicam a presença de doença vascular parenquimatosa (angiopatia amiloide devida ao péptido A β e arteriosclerose em pequenos vasos) com historial de hemorragias em mais de 50% dos casos [29]. Os dados indicam que cerca de 6 a 47% dos indivíduos com demência têm ocorrência simultânea de doença cerebrovascular [29].

- Hipertensão

A hipertensão pode contribuir como fator desencadeante para o desenvolvimento da DA através da sua capacidade de causar alterações na vasculatura responsáveis por

hipoperfusão, isquemia e hipoxia cerebral, que levam à acumulação de APP, A β e aumento da expressão de presenilina. A disfunção da BHE, causada pela hipertensão, está, igualmente, associada ao desenvolvimento da patologia neurodegenerativa [29].

- Dislipidemia

A dislipidemia aumenta o risco de desenvolvimento da DA devido ao efeito na integridade da BHE. Adicionalmente, a hipercolesterolemia está associada ao aumento da síntese e deposição de péptido A β 42 devido a alterações na clivagem da APP ou alteração do transporte e metabolismo [15]. Elevadas concentrações de colesterol têm, ainda, a capacidade de induzir a formação de NFT, declínio cognitivo, neuroinflamação, disfunção de neurónios colinérgicos e a presença de hemorragias cerebrais compatíveis com a DA [29].

- Diabetes tipo 2

A presença de Diabetes *Mellitus* tipo 2 (DM2) está intimamente relacionada com a DA. Os fatores desencadeantes podem ser a resistência à insulina, deficiência de insulina, problemas relacionados com o recetor insulínico, efeitos tóxicos da glucose e produtos de glicação avançada (AGE) e danos a nível dos vasos sanguíneos. A utilização de modelos animais permitiu demonstrar que a insulinopenia e insulinoresistência estimulam a ação da β e γ -secretase ou reduzem a *clearance* de A β , levando à acumulação deste péptido no tecido cerebral. A ativação do recetor da insulina leva à fosforilação de PI3K, que por sua vez, inibe a enzima glicogénio sintetase cinase 3 β (GSK3 β) que é importante para a fosforilação da proteína tau. Posto isto, uma deficiência de insulina ou resistência leva à ativação anormal da GSK3 β e conseqüentemente aumento da p-tau. Os AGEs induzem ainda a morte neuronal e ativação das vias de morte celular, estimulam a APP, bem como a expressão de secretases BACE1 e PSEN1, num processo envolvendo espécies reativas de oxigénio. A formação de A β glicosilada não enzimática é muito mais tóxico do que a forma não glicosilada [29].

- Matrimónio, Stress, depressão

O matrimónio é igualmente um fator que pode aumentar a suscetibilidade para o desenvolvimento da DA, sendo que a viuvez é um fator importante no desenvolvimento patologia. Em condições de *stress*, o aumento da atividade do eixo Hipotálamo-Hipófise-Supra-Renal, leva ao aumento da produção de cortisol, que pode causar a deposição de A β no hipotálamo e córtex pré-frontal, p-tau e neurodegeneração. A depressão é, também, um fator de risco para o desenvolvimento da DA, em idades mais avançadas. De acordo com

análises PET, indivíduos com depressão *major* apresentam atrofia hipocampal e deposição de A β [29].

- Tabagismo

O tabagismo pode afetar o desenvolvimento de DA através de vários mecanismos. A formação de radicais livres, desenvolvimento de *stress* oxidativo e libertação de substâncias pro-inflamatórias levam à ativação dos macrófagos e conseqüentemente neuroinflamação. Para além de aumentar predisposição a outras patologias, como as doenças cerebrovasculares, que são um risco para DA. A cessação tabágica, de acordo com as evidências recolhidas, é recomendada para diminuir a incidência de demência [29].

3.5. Diagnóstico

O diagnóstico da Doença de Alzheimer requer a presença do fenótipo característico e dos biomarcadores associados à patologia, tais como a positividade para a presença de peptídeo A β e NFTs [31]. A síndrome amnésica, atrofia cortical posterior e afasia progressiva, fenótipo clínico comumente associado à DA, quando acompanhados pela presença de peptídeo A β e tau, estabelece o diagnóstico a doença [31]. A análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) permite o doseamento da isoforma de A β 42, associada à deposição amiloide, e da proteína tau total (t-tau), refletindo a extensão da neurodegeneração. A neurogranina, uma proteína dendrítica, é um marcador sináptico e tem surgido com um novo biomarcador, visto que a sua elevada concentração no LCR está relacionada com a rápida deterioração cognitiva, atuando como fator preditivo da progressão da DA [32]. O sangue, comparativamente ao LCR, é um fluido mais acessível, contudo, é notória a baixa concentração de biomarcadores devido à elevada concentração de outras proteínas plasmáticas e protéases, que podem degradar os componentes a pesquisar [32].

As técnicas de imagiologia revelam-se vantajosas caso exista suspeita de DA e devem ser realizadas, pelo menos uma vez, em indivíduos que apresentem declínio cognitivo [32]. O cérebro pode ser examinado através de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), que deteta alterações do volume cerebral nas áreas mais afetadas na DA, o hipocampo e o córtex entorrínico. Estudos revelam que os indivíduos com DA, em comparação com o controlo, apresentam uma perda no volume no hipocampo e no córtex entorrínico de 26-27% e 38-40%, respetivamente [33]. A Tomografia de Emissão de Positrões (*Positron Emission Tomography*, PET) constitui outro método de imagiologia que utiliza uma molécula radioativa, o composto B de Pittsburgh, que atravessa a BHE e liga-se com elevada afinidade com o A β

[34]. Desta forma, é possível avaliar a presença do peptídeo β -amiloide e retirar conclusões sobre a progressão da doença consoante as áreas cerebrais afetadas.

3.6. Estratégias terapêuticas atuais

Atualmente, os fármacos aprovados para a DA tratam apenas a sintomatologia associada à patologia e consistem em três inibidores da colinesterase (AChE), a donepezilo (AChE reversível e não competitivo), galantamina (AChE reversível e competitivo) e rivastigmina (AChE pseudo-irreversível) e um antagonista não competitivo do recetor N-metil-D-aspartato (NMDA), a memantina [35] [36].

O declínio cognitivo, na DA, pode ocorrer devido à perda de neurónios colinérgicos, pelo que a utilização de inibidores da AChE, enzima responsável pela degradação da acetilcolina, permite aumentar os níveis deste neurotransmissor na sinapse e, conseqüentemente, a atividade colinérgica [35]. O tratamento de pacientes que apresentam DA leve a moderada é, geralmente, iniciado com os AChE. Caso ocorra a progressão dos sintomas durante a monoterapia com AChE, procede-se à troca por outro AChE, ou é adicionada a memantina ao regime terapêutico [35].

A memantina é utilizada na DA moderada a grave e, sendo um antagonista dos recetores NMDA, pode atuar através da redução do efeito neurotóxico da ativação excessiva dos NMDA pelo glutamato [35] [37]. Esta ativação é responsável por excitotoxicidade que tem sido associada à degeneração neurofibrilar e toxicidade induzida por tau, na DA [37].

4. METFORMINA

4.1. Perspetiva histórica

No século XIX, análises relativas aos fitoconstituintes da planta *Galega officinalis*, demonstraram que esta continha uma grande quantidade de guanidina, principalmente nas vagens de sementes imaturas. Este composto, anos mais tarde, veio a apresentar propriedades hipoglicemiantes em animais, assim como os seus derivados, galegina e sintonina. No entanto, a introdução destes no tratamento da Diabetes *Mellitus* foi impossibilitada devido à toxicidade que apresentavam. A síntese química de guanidina por Adolph Strecker permitiu aos investigadores a formação de biguanidas através da fusão de duas guanidinas, desenvolvimentos que se revelaram fulcrais para a síntese da metformina, uma dimetilbiguanida, por Werner e Bell, em 1922 [38].

No ano de 1929, através de estudos realizados em animais, foram relatadas propriedades hipoglicemiantes da metformina, bem como a sua menor toxicidade quando

comparada aos outros derivados da guanidina. Contudo, a sua utilização não foi encarada como vantajosa, dado às doses elevadas de fármaco necessárias para se observar a redução de glicose no sangue de animais. Mais tarde, em 1949, estudos posteriores concluíram que a metformina era útil no tratamento de gripes e que os indivíduos aos quais foi administrada a biguanida apresentavam níveis de glicose no sangue mais baixos [38].

Na década de 50, Sterne decidiu iniciar estudos com os seus pacientes, através dos quais concluiu que a metformina poderia substituir a necessidade de insulina ou, noutros casos, baixar a dose de insulina necessária. Desta pesquisa, foi evidenciada uma grande vantagem da utilização da metformina, que é a sua baixa capacidade de induzir hipoglicémia grave, como havia sido relatado para as sulfonilureias [38]. Atualmente a metformina representa a primeira linha de tratamento farmacológico para a Diabetes Mellitus Tipo 2, sendo altamente prescrita, mundialmente, para esta patologia [39].

4.2. Farmacocinética

A metformina é uma base hidrofílica que, a pH fisiológico, encontra-se na forma de catião, condições preponderantes no que concerne à sua farmacocinética. É absorvida no intestino delgado e apresenta uma biodisponibilidade de 50 +/- 16% [40]. A concentração plasmática máxima (C_{max}) é atingida aproximadamente 2,5 horas após a sua administração por via oral. A ligação às proteínas plasmáticas é insignificante e o volume de distribuição médio (Vd) situa-se entre 100-300L. O tempo de semi-vida é de 6 a 7 horas em indivíduos com uma função renal normal [38]. Relativamente à influência dos alimentos na absorção do fármaco, a concentração plasmática de metformina é cerca de 30-300 vezes superior em amostras de indivíduos que foram administrados com o fármaco em jejum [41].

A depuração renal média da população, calculada a partir de dados publicados, é de 510 +/- 130 mL em indivíduos saudáveis e diabéticos com uma função renal inalterada [40]. Assim, quando ocorrem alterações ao nível da função renal, a depuração renal de fármaco diminui, o tempo de semi-vida é prolongado e, conseqüentemente, ocorre o aumento da concentração de metformina no plasma e dos efeitos adversos.

No organismo, a metformina é transportada essencialmente através de transportadores de catiões orgânicos (*Organic Cation Transporters*, OCTs) (**Figura 4**), que pertencem a uma família de transportadores SLC (*Solute carrier*, SLC), os SLC22 [42]. A absorção intestinal pode ocorrer através dos OCT3 (SLC22A3) presentes na membrana apical dos enterócitos, mas também pelo transportador de monoaminas na membrana plasmática – SLC29A4. A captação do fármaco da corrente sanguínea para os hepatócitos, local onde desempenha maior parte da sua função, é mediada pelos transportadores OCT1

(SLC22A1) e possivelmente OCT3 (SLC22A3), que são ambos expressos na membrana basolateral destas células. O transportador OCT2 (SLC22A2), presente na membrana basolateral das células dos túbulos renais, desempenha uma função importante na captação de metformina da circulação para as células epiteliais renais. Por sua vez, a secreção renal de metformina da célula tubular para o lúmen é mediado por SLC47A1 e SLC47A2, transportadores expressos na membrana apical das células do túbulo proximal. A presença de OCT1 e SLC29A4 na parte apical das células dos túbulos proximal e distal podem indicar um papel importante na reabsorção de metformina [43].

A metformina será transportada para o hepatócito essencialmente através dos transportadores OCT1, dados que são corroborados por estudos realizados em roedores que não expressavam o transportador de catiões orgânicos, em que a absorção de metformina da corrente sanguínea para o fígado revelou-se insuficiente e, ainda, ineficaz na redução da glicémia [44].

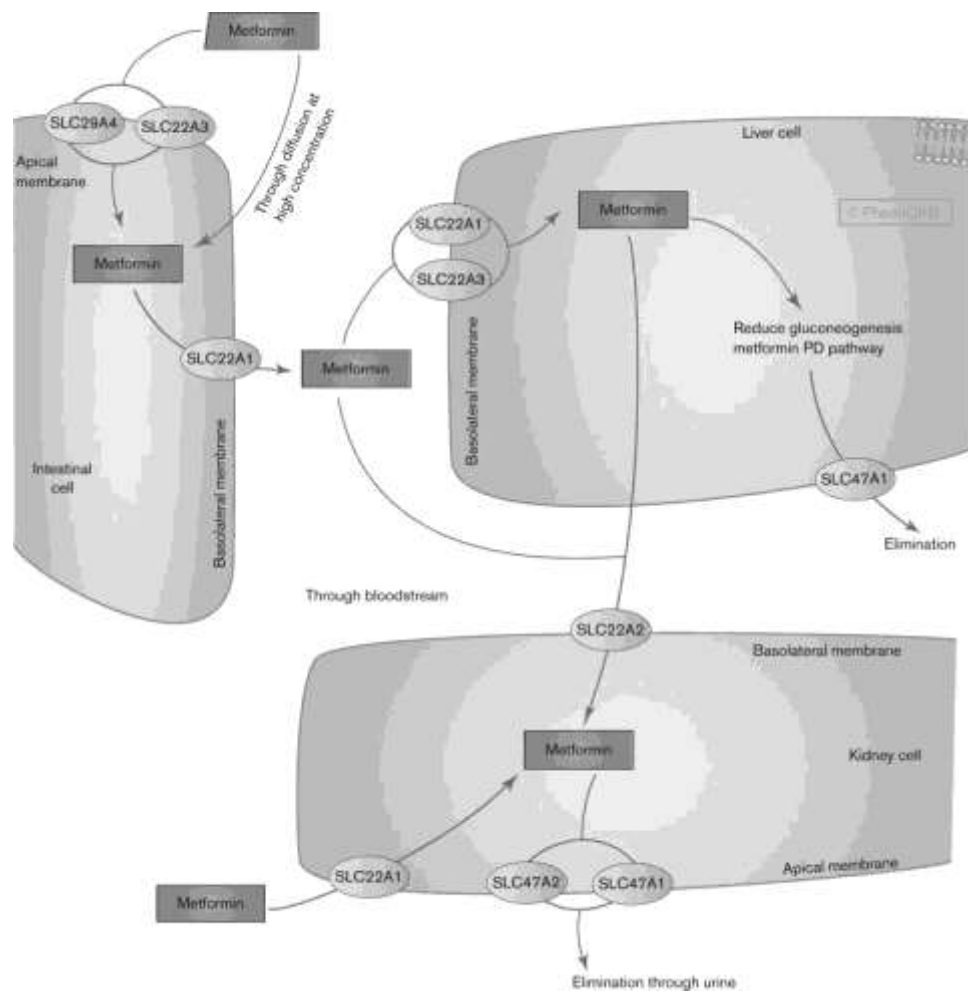


Figura 4 – Transportadores responsáveis pelo transporte e depuração da metformina no organismo humano [43].

4.3. Mecanismo de ação

4.3.1. Mecanismo de ação no fígado

A metformina pode atuar em determinados órgãos alvo através de diversos mecanismos de ação que, apesar da sua longa utilização na clínica, permanecem, ainda, pouco claros. O fígado parece ser o principal local de ação do fármaco, onde a concentração de metformina é muito superior em relação a outros órgãos, após a sua administração oral. A premissa anterior poderá ser justificada devido à grande expressão de transportadores de cationes orgânicos I (OCT1) na membrana dos hepatócitos e pelo direcionamento do fármaco absorvido a nível intestinal para o fígado a partir do sistema porta hepático [44].

A metformina atua principalmente reduzindo a produção de glicose pela via da neoglicogénese hepática, mas também demonstrou aumentar a captação de glicose nos tecidos, diminuir a resistência à insulina e melhorar o perfil lipídico graças ao seu efeito na redução da produção de lípidos e no aumento da β -oxidação de ácidos gordos. Assim, como a metformina não estimula diretamente a secreção endógena de insulina, a ocorrência de hipoglicémia não é observada, ao contrário de outros antidiabéticos não insulínicos [43]. Devido aos efeitos no metabolismo anteriormente enunciados, seria de esperar que o tratamento com metformina melhorasse a qualidade de vida, bem como a diminuição de eventos cardiovasculares, hipótese que foi corroborada com dados de estudos retrospectivos relativos à terapia a longo prazo com a biguanida [38].

A redução da produção de glicose hepática, pela diminuição da neoglicogénese, deve-se à inibição do complexo I da cadeia respiratória mitocondrial. Deste modo, a respiração aeróbia fica comprometida, existindo um desequilíbrio na produção de energia celular. Nestas condições, a célula recorre à glicólise para produção de Adenosina Trifosfato (ATP) com consequente formação de ácido láctico, que pode explicar a ocorrência de acidose láctica como efeito adverso mais grave da metformina [44].

A cadeia respiratória mitocondrial, na membrana interna da mitocôndria, compreende complexos (I-IV) que funcionam como transportadores de eletrões, até ao aceitador final de eletrões, o oxigénio. O movimento de eletrões gerado pelo potencial de redução relativamente baixo dos diversos complexos e do elevado potencial de redução do oxigénio, juntamente com o bombeamento de protões da matriz mitocondrial para o espaço intermembranar, fornecem um gradiente eletroquímico necessário para a síntese de ATP (*Adenosine triphosphate*, ATP) pela ATP-sintase. Sendo o NADH a espécie doadora de eletrões inicial, a inibição do complexo I pela metformina vai ser responsável pelo aumento da relação NADH:NAD⁺, diminuição do bombeamento de protões e do potencial

eletroquímico, levando a uma redução da síntese de ATP a partir de Adenosina Difosfato (*Adenosine diphosphate*, ADP) e fosfato inorgânico [45].

A diminuição de ATP é concomitantemente acompanhada pelo aumento de Adenosina Monofosfato (*Adenosine monophosphate*, AMP), que se revela um mediador importante no mecanismo de atuação da metformina. O AMP pode atuar por diversas vias, suprimindo a função da adenilato ciclase, comprometendo a via de sinalização cAMP-PKA que culmina na expressão de genes gliconeogénicos, mas também na inibição da frutose-1,6-bifosfatase, enzima necessária na via da gliconeogénese na conversão de frutose-1,6-bifosfato a frutose-6-fosfato. Contudo, o seu efeito mais importante será a contribuição na ativação da proteína quinase ativada pela adenosina 5'-monofosfato (*AMP-activated protein kinase*, AMPK) [44].

A AMPK é uma proteína quinase constituída por três subunidades, uma subunidade alfa catalítica e duas subunidades reguladoras, beta e gama. A ativação requer a ligação do AMP à subunidade reguladora gama mas, também, a fosforilação de resíduos de tirosina (Thr172) presentes na subunidade alfa catalítica. Assim, a ligação provoca uma alteração conformacional na AMPK que a ativa alostericamente e inibe a desfosforilação de Thr172 [46]. Deste modo, a administração de metformina ativa indiretamente a AMPK, que altera o metabolismo das células para um estado preferencialmente catalítico [45], salvaguardando o consumo de ATP, verificando-se o seu papel preponderante no restabelecimento da homeostase de células que se encontrem sob *stress* energético.

A AMPK pode, ainda, interferir na fosforilação do Coativador de Transcrição Regulado por CREB 2 (CRTC2), que desempenha um papel importante na regulação da produção hepática de glicose através da neoglicogénese. O CRTC2 não fosforilado migra para o núcleo, onde se associa ao CREB fosforilado levando à expressão de co-ativador I alfa do recetor gama ativado por proliferadores de peroxissoma (*Peroxisome Proliferator-activated receptor-gamma Coactivator-1 α* - PGC-1 α) e de outros genes que codificam enzimas intervenientes na neoglicogénese, como a glucose-6-fosfatase (G6Pase). Contudo, a fosforilação no resíduo de serina (Ser171) do CRTC2 pela AMPK impede a progressão da via de sinalização, contribuindo para a inibição da neoglicogénese [45].

A metformina reduziu o conteúdo de lípidos hepáticos, verificando-se um aumento da β -oxidação de ácidos gordos e uma diminuição na lipogénese. O sucedido pode ser explicado a partir da ativação de AMPK pelo fármaco, que induz a inativação de determinadas enzimas cruciais na síntese de ácidos gordos, tal como a Acetil CoA carboxilase (ACC) [45]. Adicionalmente, o tratamento com biaguanida diminui os níveis de

proteína de ligação ao elemento regulador de esterol-1 (SREBP-1), um fator de transcrição que estimula a lipogênese hepática [44].

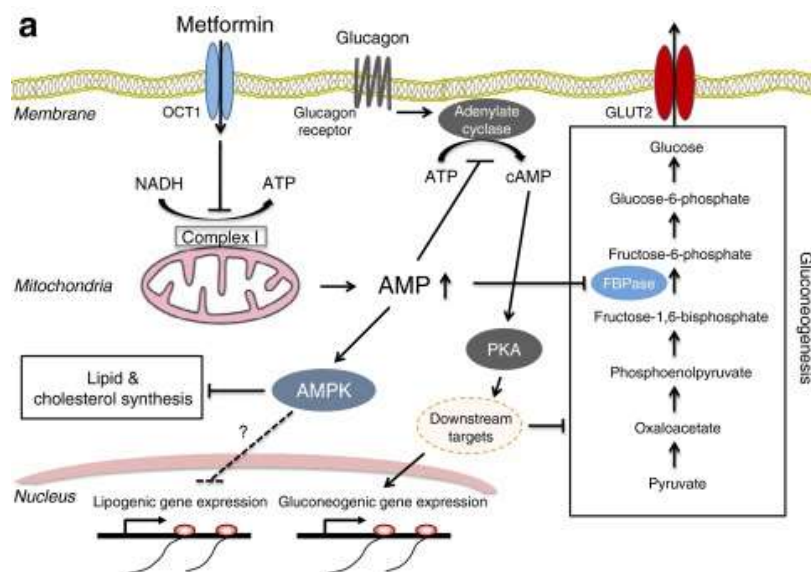


Figura 5 – Mecanismo de ação da metformina no hepatócito [44]. A metformina é transportada para o hepatócito através dos transportadores OCT1. A inibição do complexo I da cadeia respiratória mitocondrial causa o aumento de AMP, consequente ativação do AMPK e inibição da adenilato ciclase. A via de sinalização é responsável pela inibição da expressão de genes neoglicogénicos, explicando a capacidade do fármaco em inibir a neoglicogénese.

4.3.2. Mecanismo de ação no intestino

O intestino tem surgido, nos últimos anos, como um potencial órgão alvo da metformina. O fármaco demonstrou aumentar a captação de glicose nos enterócitos e favorecer o seu metabolismo anaeróbio, com consequente produção de lactato [41]. A utilização de 18F-fluorodesoxiglicose (18F-FDG) em técnicas de imagem como a tomografia computadorizada por emissão de positrões (PET-CT) permite monitorizar a captação da glicose a nível intestinal, visto que o 18F-FDG é um análogo da glicose e funciona como um marcador da sua captação. Os resultados confirmaram que a metformina causa aumento da captação de glicose no intestino, pois verificou-se um aumento na captação de 18F-FDG no intestino delgado, mas também no cólon, nos pacientes a quem era administrada a metformina [47]. O mecanismo subjacente à capacidade da metformina em induzir o metabolismo anaeróbio nos enterócitos permanece pouco claro. Contudo, estudos em ratos, nos quais os níveis plasmáticos de glicose e lactato foram medidos na veia cava inferior, veia hepática, veia porta hepática e aorta demonstraram que a concentração plasmática de lactato é superior na veia porta hepática. Isto indica que ocorreu uma maior produção de lactato no intestino que foi, posteriormente, direcionado para o fígado através da veia porta hepática [47].

O tratamento com metformina aumentou a concentração de peptídeo semelhante ao glucagon I (*Glucagon-like peptide-1*, GLP-1), em diversos estudos com roedores e humanos. O GLP-1 é uma incretina secretada pelas células L, que se encontram no intestino, mas principalmente no íleo [47]. O GLP-1 é fisiologicamente secretado após a ingestão de nutrientes e tem múltiplas ações, tais como a estimulação da expressão do gene que codifica a insulina, bem como a sua secreção, inibição da secreção do glucagon, inibição da ingestão de alimentos e retardamento do esvaziamento gástrico, contribuindo para um aumento da saciedade. Assim, devido à sua ação, a incretina participa na regulação e normalização da glicemia após a ingestão de alimentos [48].

4.3.3. Mecanismo de ação anti-inflamatório

A metformina demonstrou ter efeitos diretos na inflamação, incluindo a sua interação com a sinalização celular envolvendo o NF- κ B e outros mediadores da inflamação, inibição da diferenciação de células que integram o sistema imunitário e supressão de citocinas pró-inflamatórias [44]. A ação anti-inflamatória deve-se, em grande parte, devido à ação que tem sobre a mitocôndria e deste modo aumentar os níveis de AMP intracelular, que resulta na ativação de AMPK. Contudo, nos últimos anos, vários mecanismos independentes de AMPK foram descritos para a ação anti-inflamatória da metformina [49].

A ativação indireta da AMPK pela metformina inibiu a sinalização do mTOR, o que levou à diminuição dos níveis das citocinas pró-inflamatórias como a interleucina (IL)-1 β e IL17-A. A biguanida também induziu a expressão de *forkhead box P3* (FOXP3), um regulador células T reguladoras, que pode modular as respostas inflamatórias. Adicionalmente, a diminuição da fosforilação do fator nuclear kappa B (NF- κ B) p65, conduziu à redução de citocinas inflamatórias, como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), IL-6 e proteína C reativa (PCR). A inibição do receptor toll-like 4 (TLR4) é outro mecanismo relatado que, por um lado, resulta numa menor proliferação de mediadores inflamatórios, mas também melhorou a atrofia ventricular esquerda, em modelos de roedores com enfarte do miocárdio, o que reforça o impacto positivo da metformina nas doenças cardiovasculares. Outro efeito importante da ação do fármaco é a neutralização do efeito dos produtos finais da glicação avançada (AGE) na promoção da inflamação através do recetor para a via dos produtos finais da glicação avançada (RAGE) [49].

Os possíveis efeitos independentes da ativação AMPK, parecem estar relacionados, por exemplo, com a redução do fator 1 α induzido por hipóxia (HIF-1 α), aumento de adiponectina, uma hormona com propriedades anti-inflamatórias derivada do tecido adiposo,

redução da expressão de NADPH oxidase 2 (NOX2) e ciclo-oxigenase 2 (COX2), que contribuem para a ação anti-inflamatória da metformina.

A metformina suprime a quimiocina 11 do motivo CC (CCL11), que está relacionada com a disfunção celular e tecidual relacionadas com a idade. Estudos em roedores demonstraram que a CCL11 prejudicou não só a neurogênese, mas também a aprendizagem e capacidade cognitiva [50].

4.4. Potencial terapêutico da metformina na Doença de Alzheimer

O tratamento atual da Doença de Alzheimer é apenas sintomático, pelo que não atua na prevenção da perda neuronal, atrofia de determinadas áreas do cérebro e, consequentemente, a progressiva deterioração cognitiva [35]. O desenvolvimento de novas terapêuticas que tenham como alvo os marcadores mais característicos da DA, a A β e proteína tau, têm sido a prioridade nos últimos anos, no sentido de alterar o padrão progressivo associado à patologia. Novas terapias que têm como alvo o péptido β -amiloide têm sido o foco durante décadas, no entanto, os tratamentos mais promissores têm benefícios clínicos reduzidos durante os ensaios clínicos [35]. A redução dos depósitos de A β insolúvel, por si, pode não ser suficiente para induzir alterações benéficas na doença. Adicionalmente a complexidade dos mecanismos que conduzem à deposição de A β e a baixa penetração cerebral das terapêuticas são possíveis justificações para o fracasso das novas terapêuticas [51]. Desta forma, o reposicionamento e redirecionamento de fármacos (*Drug repositioning and repurposing*) já existentes no mercado, oferece uma via alternativa para acelerar a identificação de terapias que tenham a capacidade de atuar nos mecanismos conducentes à DA [51]. Nesse sentido, são diversos os fármacos candidatos ao “*Drug repositioning and repurposing*”, entre os quais, a metformina [51].

O uso da metformina, em indivíduos diabéticos, demonstrou reduzir o risco de desenvolver DA e tem demonstrado uma influência positiva ao controlar alguns sintomas relacionados com a patologia [52]. Verificou-se que a incidência de demência é menor em diabéticos medicados com antidiabéticos não insulínicos, sendo que o risco de desenvolver DA foi muito menor no grupo de indivíduos administrados com metformina [53]. No entanto, os resultados permanecem contraditórios, sugerindo que o efeito da biguanida poderá ter efeitos diferentes consoante os processos patológicos associados, perfil de risco e fase da doença demencial [2]. Deste modo, são necessários mais estudos sobre a administração da metformina, a longo prazo, em indivíduos com Doença de Alzheimer, com vista a elucidar os potenciais efeitos benéficos da sua utilização e os mecanismos subjacentes.

Na DA, a metformina pode atuar em diversos alvos celulares (**Figura 6**) como a inibição do complexo I da cadeia de elétrons mitocondrial, com a ativação da AMPK, a interação com a via de sinalização mTOR e fosfatase 2A (*phosphatase 2A*, PP2A) e inibição da neuroinflamação. Estes efeitos são, possivelmente, responsáveis pela inibição da hiperfosforilação da proteína tau, diminuição do *stress* oxidativo e menor libertação de citocinas pro-inflamatórias, processos conhecidos por estarem na origem da neurodegeneração. Para além do seu efeito nos neurónios, estudos revelam que os astrócitos e a microglia integram os potenciais alvos terapêuticos da metformina [2].

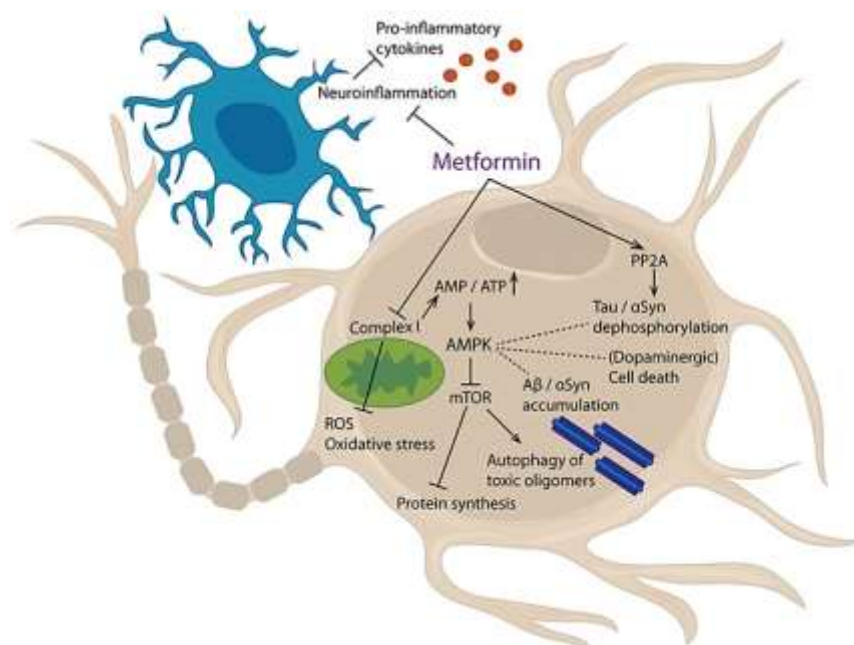


Figura 6 – Alvos celulares da metformina [2]. Inibição do complexo I da cadeia de elétrons mitocondrial, com a ativação da AMPK, e inibição da via de sinalização mTOR. A ativação de fosfatase 2A (*phosphatase 2A*, PP2A) e inibição da neuroinflamação.

4.4.1. Ativação da AMPK

A metformina, como já referido anteriormente, ao inibir o complexo I da cadeia respiratória mitocondrial, ativa indiretamente a AMPK. Sendo o AMPK um sensor do de energia celular, apresenta uma gama ampla de efeitos através de diversos mediadores importantes nos processos inflamatórios e neurodegenerativos [2]. Entre os quais a inibição a inibição da via de sinalização por mTOR, que irá ser abordada posteriormente.

A regulação da via de sinalização AMPK desempenha uma ação preponderante na DA, uma vez que demonstrou inibir a fosforilação da proteína tau e formação de péptido Aβ [54]. Um estudo realizado em células estaminais neuronais humanas corrobora esta hipótese, sendo que a ativação da AMPK pela metformina previne a agregação de Aβ, tendo, por isso, características neuroprotetoras [2]. A capacidade da metformina em diminuir

fosforilação de tau por mecanismos dependentes de AMPK, pode ocorrer pela inibição do mTOR [2].

A modulação da ação da AMPK pela metformina pode resultar na redução da atividade da proteína BACE1 em células nervosas. O sucedido ocorre por interferência com mRNA, diminuindo a expressão da BACE1 [55]. A hipótese não é consensual devido à existência de dados referentes à regulação da BACE1 em neurónios com vista a aumentar a geração de A β , sugerindo os efeitos prejudiciais da ativação de AMPK [2].

A fisiopatologia da DA é complexa, resultando de múltiplos fatores genéticos ou adquiridos. No desenvolvimento da doença, a sua progressão é responsável por alterações nos mecanismos celulares e moleculares subjacentes à patologia, com o possível aparecimento de mecanismos compensatórios. Assim, compreende-se que a ação da metformina principalmente através da inibição do complexo I na mitocôndria pode ter efeitos heterogêneos na via de sinalização AMPK, dependendo do envolvimento e do tipo de sinalização mitocondrial em cada doente e modelo de estudo utilizado [2].

4.4.2. Inibição da via de sinalização mTOR

A metformina atua indiretamente suprimindo a via mTOR através da inibição do complexo I da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial e consequente ativação da AMPK, como referido anteriormente. A mTOR é uma proteína quinase composta por dois complexos distintos, mTORC1 e mTORC2 [56]. A ativação da via de sinalização mTOR é responsável por determinadas funções celulares, tais como biossíntese de macromoléculas, autofagia, controlo metabólico, biogénese mitocondrial e tradução de mRNA. Apresenta ainda funções de regulação do crescimento, sobrevivência e morte celular [2] [56]. Assim, a sua desregulação está associada a determinadas doenças como cancro, distúrbios metabólicos e doenças neurológicas [57].

Os indivíduos com DA, possuem elevada atividade mTOR [2], pelo que a sua inibição poderá trazer efeitos benéficos, tal como foi comprovado com a utilização da rapamicina, um inibidor de mTOR. A rapamicina tem a capacidade de ligar e induzir alterações no complexo mTORC1 e a sua utilização demonstrou reduzir o declínio cognitivo e A β [2]. É, ainda, importante referir que a inibição da mTOR demonstrou reduzir a fosforilação da tau induzida por microcistina-leucina-arginina, contribuindo para a diminuição da neurotoxicidade [52]. Adicionalmente, existem dados que indicam que a metformina pode inibir diretamente o mTORC1 através de um mecanismo independente de AMPK [58].

Desta forma, estabelecendo uma comparação, a metformina, assim como a rapamicina, ao inibir a via de sinalização mTOR, pode exercer um efeito benéfico nos

mecanismos associados à neurodegeneração e atrasar a progressão da DA, no entanto, essas informações carecem de estudos robustos que suportem essa hipótese.

4.4.3. Atividade Anti-inflamatória

A neuroinflamação, como referido anteriormente, desempenha um papel importante na fisiopatologia da DA. A estimulação da microglia, pela deposição de A β , leva ao aumento da expressão de marcadores inflamatórios como MHC-I, MHC-II, IL-1 e TNF- α [52]. O uso de fármacos com propriedades anti-inflamatórias, como os anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) demonstrou reduzir o risco de DA em 50%, e, os seus efeitos protetores contra a neurotoxicidade causada pela deposição de péptido β -amiloide foram comprovados em modelos animais [52]. A metformina demonstrou reduzir a resposta inflamatória através do aumento da depuração de A β e da inibição da via de sinalização NF-KB, envolvida na expressão e proliferação de citocinas pró-inflamatórias [2][52]. A metformina demonstrou reduzir a expressão de diferentes citocinas pro-inflamatórias, que têm uma ação importante no desenvolvimento da DA, como TNF- α e IL-6 e IL-1, tal como é referido na hipótese da neuroinflamação. A ação anti-inflamatória da biguanida leva à diminuição destes mediadores, assim as funções que desempenham no aumento da produção e acumulação de A β , através do aumento da expressão de enzimas amiloidogénicas, e hiperfosforilação de tau, não se verificam [52].

4.4.4. Inibição do Stress oxidativo

O Stress oxidativo é caracterizado por um desequilíbrio no sistema redox celular ou pela acumulação excessiva de ROS, que podem causar danos celulares tais como a oxidação de biomoléculas, incluindo ácidos nucleicos, proteínas e lípidos [59]. O cérebro é especialmente suscetível ao dano oxidativo devido ao elevado consumo de oxigénio, grandes quantidades de ácidos gordos poli-insaturados, que são alvo de radicais livres e ainda pelos baixos níveis de antioxidantes. As espécies reativas de oxigénio (ROS) contribuem para a lesão cerebral em doenças neurodegenerativas, podendo induzir a acumulação de A β . Na DA, a deficiência de Citocromo c oxidase na cadeia transportadora de eletrões mitocondrial é responsável pela produção excessiva de ROS, diminuição dos níveis de energia e disfunção metabólica. A associação entre os efeitos de ROS na hiperfosforilação da proteína tau pode ser explicada devido à capacidade do ROS em inibir a fosfatase 2A (*phosphatase 2A*, PP2A) e consequente ativação da GSK3 β (*glycogen synthase kinase 3 β*), que causa a hiperfosforilação da proteína tau e consequente formação de NFTs [59].

O dano oxidativo é, normalmente, acompanhado pela regulação positiva de enzimas antioxidantes, tal como acontece com a superóxido dismutase (SOD) e glutatona peroxidase (GPx) cuja expressão está aumentada em indivíduos com DA [52][60]. A metformina, ao aumentar a expressão de SOD, induz a degradação de A β e diminui o *stress* oxidativo. A proteção dos neurónios contra o comprometimento da memória, pela metformina, através do aumento de enzimas antioxidantes como a catalase, GPx e glutatona. O ácido desidroascórbico (*Dehydroascorbic acid*, DHA), que contribui para a perda neuronal, é captado pelos astrócitos através dos GLUT-1 e, numa reação catalizada pela GSH, convertem em vitamina C. A metformina pode aumentar a captação de DHA através do aumento da expressão de GLUT-1 e de GSH [52].

O *stress* do retículo endoplasmático é uma das consequências do *stress* oxidativo e leva à desregulação da homeostase do cálcio celular. O aumento do cálcio citoplasmático está associado à ativação de vias de apoptose, fosforilação da proteína tau e formação de A β [61]. Dados recentes mostram que a metformina reduz o cálcio citoplasmático através da inibição do *stress* do retículo endoplasmático e redução do influxo de cálcio através dos recetores NMDA [52]. Os mecanismos propostos para a inibição do *stress* oxidativo, por parte da metformina estão representados na **Figura 7**.

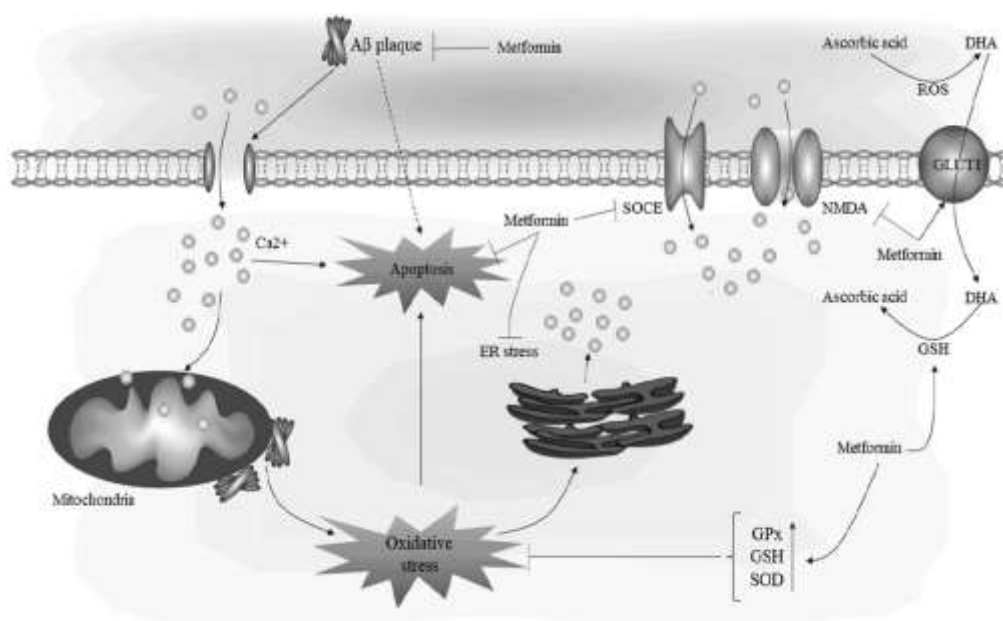


Figura 7 – Mecanismos subjacentes à inibição do *stress* oxidativo pela metformina [52].

4.4.5. Inibição da hiperfosforilação da proteína tau

Os NFTs, constituídos essencialmente por p-tau, são das alterações estruturais, presentes nos cérebros de indivíduos com DA, mais evidentes. A hiperfosforilação desta proteína resulta do desequilíbrio celular de quinases e fosfatases da tau [52]. Desta forma, as

tau quinases (GSK-3, ERK1/2 e cdk5), responsáveis pela formação de p-tau, representam um alvo terapêutico na abordagem das taupatias [62]. A biguanida demonstra ter um efeito inibitório sobre a ERK1/2, no entanto, a GSK-3 pode ser inibida ou estimulada. De forma geral, a metformina pode restaurar as atividades de GSK-3 e ERK1/2 e a monoterapia com este fármaco reduziu parcialmente a hiperfosforilação da tau [52]. Segundo alguns investigadores, a metformina, pode induzir a atividade da PP2A por mecanismos independentes de AMPK e, sendo a PP2A uma tau fosfatase, levar a redução da fosforilação da proteína tau *in vivo* e *in vitro* [63]. Adicionalmente, o tratamento com a biguanida promoveu a fagocitose de proteína tau, mas também de A β , pela microglia, reduzindo a sua deposição em agregados insolúveis [64].

Contudo, existem dados que relatam o aumento de espécies insolúveis de tau e promoção da agregação da mesma em NFTs, como resultado da terapêutica com metformina [52]. Assim, dado à existência de resultados contraditórios são necessários mais estudos que esclarecem a mecanismo de ação da metformina neste processo, que é, ainda, incerto.

5. CONCLUSÃO

A apresentação e desenvolvimento dos aspetos presentes nesta monografia, tornou possível concluir que a etiologia das doenças neurodegenerativas, nomeadamente da DA, é caracterizada por uma grande complexidade, sendo que são várias as hipóteses estudadas. Neste trabalho, foram desenvolvidas as hipóteses da cascata β -amiloide, da hiperfosforilação da proteína tau e da neuroinflamação. No entanto, a compreensão dos mecanismos patológicos envolvidos nesta doença apresenta, ainda, muitas lacunas, o que condiciona o desenvolvimento de técnicas de diagnóstico e de terapias que retardem a progressão da mesma.

A metformina consiste num fármaco antidiabético não insulínico utilizado como primeira linha no tratamento da Diabetes *Mellitus* Tipo 2, cujos mecanismos de ação são complexos e variados, carecendo, ainda, de investigação posterior que permita a sua melhor caracterização. Ainda assim, foi possível concluir que a inibição do complexo I da cadeia respiratória mitocondrial, e todas as consequências que desta advêm, como a ativação da AMPK, parece exercer a principal ação benéfica no organismo, sendo que esta condiciona a produção de glucose hepática e a expressão de genes gluconeogénicos e lipogénicos. Além disto, a metformina demonstrou ter efeitos benéficos diretos na inflamação, diminuindo os níveis de citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-1 β , IL-6 e TNF α .

A metformina demonstrou reduzir a incidência de demência e DA em indivíduos diabéticos, inibir a hiperfosforilação da proteína tau e reduzir a libertação de citocinas pró-inflamatórias e stress oxidativo, que consistem em processos basilares na origem da neurodegeneração característica da DA. A sua ação sobre a AMPK pode resultar na redução da BACE1, diminuindo a geração de A β . A inibição da sinalização mTOR demonstrou, em estudos, a redução do declínio cognitivo, formação de A β e hiperfosforilação da proteína tau. As suas características anti-inflamatórias permitem reduzir os efeitos dos mediadores IL-1, IL-1 β , IL-6 e TNF α , que demonstraram aumentar a expressão de enzimas amiloidogénicas e p-tau. O efeito da biguanida no aumento da expressão de enzimas antioxidantes, como a SOD, permite reduzir os efeitos nefastos dos mesmos na indução de neurodegeneração. Por fim, está associada, ainda, à indução da atividade de uma tau fosfatase, a PP2A, diminuindo a p-tau.

Os efeitos anteriormente enunciados demonstram que a metformina poderá ser uma candidata ao “*drug repositioning and repurposing*” no contexto da terapêutica de DA, podendo ter influência sobre a celeridade do processo e na redução de custos associados ao

desenvolvimento de terapêuticas para esta patologia, na medida que o tratamento atual recai apenas sobre a sintomatologia desta doença neurodegenerativa.

Por fim, é possível verificar que os dados, embora evidentes, são acompanhados de constantes lacunas e resultados contraditórios, que podem advir da complexidade do mecanismo de ação do fármaco e, também, das diferentes fases da DA. Desta forma, existe a necessidade de estudos mais robustos que suportem o seu potencial terapêutico na Doença de Alzheimer.

6. BIBLIOGRAFIA

- [1] W. H. Organisation. **Global action plan on the public health response to dementia 2017 - 2025**. *Geneva World Heal. Organ.*, p. 52, 2017, [Consultado a 2 de maio de 2022]. Disponível em: http://www.who.int/mental_health/neurology/dementia/action_plan_2017_2025/en/.
- [2] Rotermund, C., Machetanz, G., & Fitzgerald, J. C. (2018). **The Therapeutic Potential of Metformin in Neurodegenerative Diseases**. *Frontiers in endocrinology*, 9, 400. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00400>
- [3] Alzheimer's Association (2014). **2014 Alzheimer's disease facts and figures**. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*, 10(2), e47–e92. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.02.001>
- [4] Arvanitakis, Z., Shah, R. C., & Bennett, D. A. (2019). **Diagnosis and Management of Dementia: Review**. *JAMA*, 322(16), 1589–1599. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.4782>
- [5] WHO (World Health Organization). **Risk Reduction Of Cognitive Decline And Dementia. 2019**. [Consultado a 28 de de 2022]. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241550543>
- [6] Korolev, I. O. (2014). **Alzheimer's disease: a clinical and basic science review**. *Medical Student Research Journal*, 4(1), 24-33.
- [7] Tiwari, S., Atluri, V., Kaushik, A., Yndart, A., & Nair, M. (2019). **Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics**. *International journal of nanomedicine*, 14, 5541–5554. <https://doi.org/10.2147/IJN.S200490>
- [8] Kumar, A., Singh, A., & Ekavali (2015). **A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update**. *Pharmacological reports : PR*, 67(2), 195–203. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2014.09.004>
- [9] Long, J. M., & Holtzman, D. M. (2019). **Alzheimer Disease: An Update on Pathobiology and Treatment Strategies**. *Cell*, 179(2), 312–339. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.09.001>
- [10] Breijyeh, Z., & Karaman, R. (2020). **Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment**. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(24), 5789. <https://doi.org/10.3390/molecules25245789>

- [11] Ferro, J. e Pimentel, J. **Neurologia: Princípios, Diagnóstico e Tratamento**. LIDEL, 2006, pp. 185–190.
- [12] García-Morales, V., González-Acedo, A., Melguizo-Rodríguez, L., Pardo-Moreno, T., Costela-Ruiz, V. J., Montiel-Troya, M., & Ramos-Rodríguez, J. J. (2021). **Current Understanding of the Physiopathology, Diagnosis and Therapeutic Approach to Alzheimer's Disease**. *Biomedicines*, 9(12), 1910. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9121910>
- [13] Steiner, H., Fukumori, A., Tagami, S., & Okochi, M. (2018). **Making the final cut: pathogenic amyloid- β peptide generation by γ -secretase**. *Cell stress*, 2(11), 292–310. <https://doi.org/10.15698/cst2018.11.162>
- [14] Rohan de Silva, H. A., Jen, A., Wickenden, C., Jen, L. S., Wilkinson, S. L., & Patel, A. J. (1997). **Cell-specific expression of beta-amyloid precursor protein isoform mRNAs and proteins in neurons and astrocytes**. *Brain research. Molecular brain research*, 47(1-2), 147–156. [https://doi.org/10.1016/s0169-328x\(97\)00045-4](https://doi.org/10.1016/s0169-328x(97)00045-4)
- [15] Alves, L., Correia, A. S., Miguel, R., Alegria, P., & Bugalho, P. (2012). **Alzheimer's disease: a clinical practice-oriented review**. *Frontiers in neurology*, 3, 63. <https://doi.org/10.3389/fneur.2012.00063>
- [16] Bandyopadhyay, S., Goldstein, L. E., Lahiri, D. K., & Rogers, J. T. (2007). **Role of the APP non-amyloidogenic signaling pathway and targeting alpha-secretase as an alternative drug target for treatment of Alzheimer's disease**. *Current medicinal chemistry*, 14(27), 2848–2864. <https://doi.org/10.2174/092986707782360060>
- [17] Chen, Gf., Xu, Th., Yan, Y. et al. **Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development**. *Acta Pharmacol Sin* 38, 1205–1235 (2017). <https://doi.org/10.1038/aps.2017.28>
- [18] Galvão, F., Jr, Grokoski, K. C., da Silva, B. B., Lamers, M. L., & Siqueira, I. R. (2019). **The amyloid precursor protein (APP) processing as a biological link between Alzheimer's disease and cancer**. *Ageing research reviews*, 49, 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2018.11.007>
- [19] Iqbal, K., Liu, F., Gong, C. X., Alonso, A., & Grundke-Iqbal, I. (2009). **Mechanisms of tau-induced neurodegeneration**. *Acta neuropathologica*, 118(1), 53–69. <https://doi.org/10.1007/s00401-009-0486-3>

- [20] Naseri, N. N., Wang, H., Guo, J., Sharma, M., & Luo, W. (2019). **The complexity of tau in Alzheimer's disease**. *Neuroscience letters*, 705, 183–194. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.04.022>
- [21] Medeiros, R., Baglietto-Vargas, D., & LaFerla, F. M. (2011). **The role of tau in Alzheimer's disease and related disorders**. *CNS neuroscience & therapeutics*, 17(5), 514–524. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00177.x>
- [22] Guo, T., Noble, W., & Hanger, D. P. (2017). **Roles of tau protein in health and disease**. *Acta neuropathologica*, 133(5), 665–704. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1707-9>
- [23] Pereira, C. F., Santos, A. E., Moreira, P. I., Pereira, A. C., Sousa, F. J., Cardoso, S. M., & Cruz, M. T. (2019). **Is Alzheimer's disease an inflammasomopathy?** *Ageing research reviews*, 56, 100966. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.100966>
- [24] Lull, M. E., & Block, M. L. (2010). **Microglial activation and chronic neurodegeneration**. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 7(4), 354–365. <https://doi.org/10.1016/j.nurt.2010.05.014>
- [25] Quintanilla, R. A., Orellana, D. I., González-Billault, C., & Maccioni, R. B. (2004). **Interleukin-6 induces Alzheimer-type phosphorylation of tau protein by deregulating the cdk5/p35 pathway**. *Experimental cell research*, 295(1), 245–257. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2004.01.002>
- [26] Goldgaber, D., Harris, H. W., Hla, T., Maciag, T., Donnelly, R. J., Jacobsen, J. S., Vitek, M. P., & Gajdusek, D. C. (1989). **Interleukin I regulates synthesis of amyloid beta-protein precursor mRNA in human endothelial cells**. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86(19), 7606–7610. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.19.7606>
- [27] Yamamoto, M., Kiyota, T., Horiba, M., Buescher, J. L., Walsh, S. M., Gendelman, H. E., & Ikezu, T. (2007). **Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha regulate amyloid-beta plaque deposition and beta-secretase expression in Swedish mutant APP transgenic mice**. *The American journal of pathology*, 170(2), 680–692. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2007.060378>
- [28] Liao, Y. F., Wang, B. J., Cheng, H. T., Kuo, L. H., & Wolfe, M. S. (2004). **Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1beta, and interferon-gamma stimulate**

- gamma-secretase-mediated cleavage of amyloid precursor protein through a JNK-dependent MAPK pathway.** *The Journal of biological chemistry*, 279(47), 49523–49532. <https://doi.org/10.1074/jbc.M402034200>
- [29] Silva, M.V.F., Loures, C.d.M.G., Alves, L.C.V. et al. **Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures.** *J Biomed Sci* 26, 33 (2019). <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0524-y>
- [30] Giri, M., Zhang, M., & Lü, Y. (2016). **Genes associated with Alzheimer's disease: an overview and current status.** *Clinical interventions in aging*, 11, 665–681. <https://doi.org/10.2147/CIA.S105769>
- [31] Dubois, B., Villain, N., Frisoni, G. B., Rabinovici, G. D., Sabbagh, M., Cappa, S., Bejanin, A., Bombois, S., Epelbaum, S., Teichmann, M., Habert, M. O., Nordberg, A., Blennow, K., Galasko, D., Stern, Y., Rowe, C. C., Salloway, S., Schneider, L. S., Cummings, J. L., & Feldman, H. H. (2021). **Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: recommendations of the International Working Group.** *The Lancet. Neurology*, 20(6), 484–496. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(21\)00066-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00066-1)
- [32] Scheltens, P., Blennow, K., Breteler, M. M., de Strooper, B., Frisoni, G. B., Salloway, S., & Van der Flier, W. M. (2016). **Alzheimer's disease.** *Lancet (London, England)*, 388(10043), 505–517. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01124-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01124-1)
- [33] Chandra, A., Dervenoulas, G., Politis, M., & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2019). **Magnetic resonance imaging in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment.** *Journal of neurology*, 266(6), 1293–1302. <https://doi.org/10.1007/s00415-018-9016-3>
- [34] Masters, C. L., Bateman, R., Blennow, K., Rowe, C. C., Sperling, R. A., & Cummings, J. L. (2015). **Alzheimer's disease.** *Nature reviews. Disease primers*, 1, 15056. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.56>
- [35] Vaz, M., & Silvestre, S. (2020). **Alzheimer's disease: Recent treatment strategies.** *European journal of pharmacology*, 887, 173554. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173554>
- [36] Grossberg, G. T., Tong, G., Burke, A. D., & Tariot, P. N. (2019). **Present Algorithms and Future Treatments for Alzheimer's Disease.** *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 67(4), 1157–1171. <https://doi.org/10.3233/JAD-180903>
- [37] Van Marum R. J. (2009). **Update on the use of memantine in Alzheimer's**

- disease.** *Neuropsychiatric disease and treatment*, 5, 237–247. <https://doi.org/10.2147/ndt.s4048>
- [38] Bailey C. J. (2017). **Metformin: historical overview.** *Diabetologia*, 60(9), 1566–1576. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4318-z>
- [39] Flory, J., & Lipska, K. (2019). **Metformin in 2019.** *JAMA*, 321(19), 1926–1927. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.3805>
- [40] Graham, G. G., Punt, J., Arora, M., Day, R. O., Doogue, M. P., Duong, J. K., Furlong, T. J., Greenfield, J. R., Greenup, L. C., Kirkpatrick, C. M., Ray, J. E., Timmins, P., & Williams, K. M. (2011). **Clinical pharmacokinetics of metformin.** *Clinical pharmacokinetics*, 50(2), 81–98. <https://doi.org/10.2165/11534750-000000000-00000>
- [41] Rena, G., Hardie, D. G., & Pearson, E. R. (2017). **The mechanisms of action of metformin.** *Diabetologia*, 60(9), 1577–1585. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4342-z>
- [42] Colas, C., Ung, P. M., & Schlessinger, A. (2016). **SLC Transporters: Structure, Function, and Drug Discovery.** *MedChemComm*, 7(6), 1069–1081. <https://doi.org/10.1039/C6MD00005C>
- [43] Gong, L., Goswami, S., Giacomini, K. M., Altman, R. B., & Klein, T. E. (2012). **Metformin pathways: pharmacokinetics and pharmacodynamics.** *Pharmacogenetics and genomics*, 22(11), 820–827. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e3283559b22>
- [44] Rena, G., Pearson, E. R., & Sakamoto, K. (2013). **Molecular mechanism of action of metformin: old or new insights?.** *Diabetologia*, 56(9), 1898–1906. <https://doi.org/10.1007/s00125-013-2991-0>
- [45] Viollet, B., Guigas, B., Sanz Garcia, N., Leclerc, J., Foretz, M., & Andreelli, F. (2012). **Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview.** *Clinical science (London, England : 1979)*, 122(6), 253–270. <https://doi.org/10.1042/CS20110386>
- [46] Zhou, G., Myers, R., Li, Y., Chen, Y., Shen, X., Fenyk-Melody, J., Wu, M., Ventre, J., Doebber, T., Fujii, N., Musi, N., Hirshman, M. F., Goodyear, L. J., & Moller, D. E. (2001). **Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action.** *The Journal of clinical investigation*, 108(8), 1167–1174. <https://doi.org/10.1172/JCI13505>

- [47] McCreight, L. J., Bailey, C. J., & Pearson, E. R. (2016). **Metformin and the gastrointestinal tract**. *Diabetologia*, 59(3), 426–435. <https://doi.org/10.1007/s00125-015-3844-9>
- [48] Yasuda, N., Inoue, T., Nagakura, T., Yamazaki, K., Kira, K., Saeki, T., & Tanaka, I. (2002). **Enhanced secretion of glucagon-like peptide I by biguanide compounds**. *Biochemical and biophysical research communications*, 298(5), 779–784. [https://doi.org/10.1016/s0006-291x\(02\)02565-2](https://doi.org/10.1016/s0006-291x(02)02565-2)
- [49] Kristófi, R., & Eriksson, J. W. (2021). **Metformin as an anti-inflammatory agent: a short review**. *The Journal of endocrinology*, 251(2), R11–R22. <https://doi.org/10.1530/JOE-21-0194>
- [50] Villeda, S., Luo, J., Mosher, K. et al. **The ageing systemic milieu negatively regulates neurogenesis and cognitive function**. *Nature* 477, 90–94 (2011). <https://doi.org/10.1038/nature10357>
- [51] Ballard, C., Aarsland, D., Cummings, J., O'Brien, J., Mills, R., Molinuevo, J. L., Fladby, T., Williams, G., Doherty, P., Corbett, A., & Sultana, J. (2020). **Drug repositioning and repurposing for Alzheimer disease**. *Nature reviews. Neurology*, 16(12), 661–673. <https://doi.org/10.1038/s41582-020-0397-4>
- [52] Khezri, M. R., Yousefi, K., Mahboubi, N., Hodaei, D., & Ghasemnejad-Berenji, M. (2022). **Metformin in Alzheimer's disease: An overview of potential mechanisms, preclinical and clinical findings**. *Biochemical pharmacology*, 197, 114945. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2022.114945>
- [53] Hsu, C. C., Wahlqvist, M. L., Lee, M. S., & Tsai, H. N. (2011). **Incidence of dementia is increased in type 2 diabetes and reduced by the use of sulfonylureas and metformin**. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 24(3), 485–493. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-101524>
- [54] Greco, S. J., Sarkar, S., Johnston, J. M., & Tezapsidis, N. (2009). **Leptin regulates tau phosphorylation and amyloid through AMPK in neuronal cells**. *Biochemical and biophysical research communications*, 380(1), 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.01.041>
- [55] Hettich, M. M., Matthes, F., Ryan, D. P., Griesche, N., Schröder, S., Dorn, S., Krauß, S., & Ehninger, D. (2014). **The anti-diabetic drug metformin reduces BACE1 protein level by interfering with the MIDI complex**. *PloS one*, 9(7), e102420.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102420>

- [56] Laplante, M., & Sabatini, D. M. (2012). **mTOR signaling in growth control and disease**. *Cell*, 149(2), 274–293. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.017>
- [57] Wang, C., Yu, J. T., Miao, D., Wu, Z. C., Tan, M. S., & Tan, L. (2014). **Targeting the mTOR signaling network for Alzheimer's disease therapy**. *Molecular neurobiology*, 49(1), 120–135. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8505-8>.
- [58] Kalender, A., Selvaraj, A., Kim, S. Y., Gulati, P., Brûlé, S., Viollet, B., Kemp, B. E., Bardeesy, N., Dennis, P., Schlager, J. J., Marette, A., Kozma, S. C., & Thomas, G. (2010). **Metformin, independent of AMPK, inhibits mTORC1 in a rag GTPase-dependent manner**. *Cell metabolism*, 11(5), 390–401. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.03.014>
- [59] Misrani, A., Tabassum, S., & Yang, L. (2021). **Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress in Alzheimer's Disease**. *Frontiers in aging neuroscience*, 13, 617588. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.617588>
- [60] Perry, G., Cash, A. D., & Smith, M. A. (2002). **Alzheimer Disease and Oxidative Stress**. *Journal of biomedicine & biotechnology*, 2(3), 120–123. <https://doi.org/10.1155/S1110724302203010>
- [61] Tong, B. C., Wu, A. J., Li, M., & Cheung, K. H. (2018). **Calcium signaling in Alzheimer's disease & therapies**. *Biochimica et biophysica acta. Molecular cell research*, 1865(11 Pt B), 1745–1760. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2018.07.018>
- [62] Morishima-Kawashima, M., Hasegawa, M., Takio, K., Suzuki, M., Yoshida, H., Titani, K., & Ihara, Y. (1995). **Proline-directed and non-proline-directed phosphorylation of PHF-tau**. *The Journal of biological chemistry*, 270(2), 823–829. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.2.823>
- [63] Kickstein, E., Krauss, S., Thornhill, P., Rutschow, D., Zeller, R., Sharkey, J., Williamson, R., Fuchs, M., Köhler, A., Glossmann, H., Schneider, R., Sutherland, C., & Schweiger, S. (2010). **Biguanide metformin acts on tau phosphorylation via mTOR/protein phosphatase 2A (PP2A) signaling**. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(50), 21830–21835.
- [64] Chen, Y., Zhao, S., Fan, Z. et al. **Metformin attenuates plaque-associated tau pathology and reduces amyloid- β burden in APP/PS1 mice**. *Alz Res Therapy* 13, 40 (2021). <https://doi.org/10.1186/s13195-020-00761-9>