



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Carina Daniela Coutinho Matos

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O alelo épsilon 4 da *APOE* como fator de risco genético preponderante no desenvolvimento da forma esporádica da doença de Alzheimer”, sob a orientação da Dra. Suzana Branco, da Dra. Dina Lopes e da Professora Doutora Armanda Emanuela Castro Santos, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2022



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Carina Daniela Coutinho Matos

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O alelo épsilon 4 da *APOE* como fator de risco genético preponderante no desenvolvimento da forma esporádica da doença de Alzheimer”, sob a orientação da Dra. Suzana Branco, da Dra. Dina Lopes e da Professora Doutora Armanda Emanuela Castro Santos, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2022

Eu, Carina Daniela Coutinho Matos, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2017264793, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O alelo épsilon 4 da APOE como fator de risco genético preponderante no desenvolvimento da forma esporádica da doença de Alzheimer” apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 9 de setembro de 2022.



(Carina Daniela Coutinho Matos)

Agradecimentos

Aos meus pais, por todo o esforço e dedicação para tornarem possível todos os sonhos da minha vida. Por toda a sabedoria e conhecimentos que me transmitiram. Pela ótima educação e lições de vida que me ensinaram. Por sempre me motivarem a ser a minha melhor versão. A vós, devo tudo. Nunca terei palavras suficientes para vos agradecer. Sem vocês nada disto seria possível. Espero um dia ser metade de tudo aquilo que vocês são.

À minha irmã, por me ter “obrigado” a crescer sozinha desde muito pequena. Por ter sido a grande influência do meu rápido desenvolvimento, que me tornou na pessoa independente e responsável que sou hoje.

Aos meus avós, Armindo e Alcina, por todo o carinho e ensinamentos sábios. Por, também eles, me incentivarem a ir sempre à procura do que me faz feliz.

Ao meu primo Miguel, por ser o irmão mais velho que nunca tive. Pelas boas recordações e gargalhadas. Pela ambição que me motiva a ter. Por me mostrar que quando se quer, se consegue, com muito trabalho e força de vontade. Por ser um exemplo a seguir.

À Daniela, por me apoiar e ajudar a ultrapassar momentos difíceis. Pela boa amizade e por todo o conhecimento transmitido durante o estágio na Farmácia Baptista.

À minha Fi, por, desde o primeiro dia, me ter acompanhado nesta jornada. Por me ter ensinado a ser uma pessoa melhor e a acreditar que até nos momentos mais difíceis da vida conseguimos seguir em frente e de cabeça erguida. Pelo amor e companheirismo que sempre lhe foram característicos.

À minha madeirense do coração, por me mostrar que no mundo ainda existem pessoas boas. Por ser tão gentil e generosa. Pelas noites na Praça da Canção e também por aquelas em que ficamos a meio. Pelo companheirismo nos nossos longos dias de estudo. E pela grande amizade que temos.

À minha Mati, por ter sido a minha melhor *roomie*. Por todas as longas noites de conversa e risadas. Por me mostrar que viver loucamente é um dos maiores prazeres da vida. Por ser tão querida e me ensinar a ser persistente e paciente.

Ao meu amigo Luís, por ser tão peculiar e me ensinar a ser otimista. Por ser um ótimo amigo e conselheiro. Por me conseguir acalmar e roubar um sorriso em momentos difíceis.

Às amigas que fiz na faculdade e que levo comigo para a vida. Por tornarem esta caminhada ainda mais fácil e divertida.

À Dra. Isabel Brandão, por me ter acolhido na sua farmácia e por todos os conhecimentos transmitidos. Pelo seu altruísmo e vontade de ajudar as pessoas.

A toda a equipa da Farmácia Baptista pelos ensinamentos e amizade.

À Professora Doutora Armanda Santos por ter aceitado o convite para me acompanhar nesta etapa final do meu percurso académico e pela disponibilidade e amabilidade que teve comigo.

A todos os docentes e não docentes da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra por terem tido um papel fundamental no meu percurso académico.

A Coimbra, por se ter tornado a minha segunda casa. Por me fazer ver a vida com outros olhos e me ter dado a oportunidade de viver tantas coisas boas.

A todos vós, o meu eterno OBRIGADO.

Levo-vos a todos comigo, para sempre.

Índice

Parte I - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas	8
Introdução	9
1. Farmácia Baptista.....	10
2. Análise SWOT	10
2.1. Pontos Fortes	11
2.1.1. Equipa técnica e fácil integração na mesma	11
2.1.2. Plano de estágio	12
2.1.3. Autonomia na realização de tarefas	12
2.1.4. Preparação individualizada da medicação (PIM).....	13
2.2. Pontos Fracos.....	13
2.2.1. Localização da farmácia	13
2.2.2. Escassa preparação de manipulados	13
2.2.3. Ausência de contacto com o Sifarma 2020®	14
2.3. Oportunidades	14
2.3.1. Formação contínua.....	14
2.3.2. Valormed	15
2.4. Ameaças.....	15
2.4.1. Medicamentos esgotados.....	15
2.4.2. Locais de venda de MNSRM.....	16
2.4.3. Reduzida componente prática durante o MICF.....	17
2.4.4. Caligrafia impercetível das receitas manuais.....	17
3. Casos Clínicos.....	18
Conclusão.....	22
Referências Bibliográficas	23

Parte II - Relatório de Estágio no INFARMED, I.P.

Lista de Abreviaturas	26
Introdução	27
1. INFARMED – Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.	28
2. Direção de Avaliação de Medicamentos	29
3. Análise SWOT	29
3.1. Pontos Fortes	30

3.1.1. Formação inicial	30
3.1.2. Autonomia e responsabilidade	30
3.1.3. Conhecimentos e competências adquiridas	31
3.1.4. Competência da equipa da DAM	31
3.1.5. Plataformas eletrónicas internas	31
3.2. Pontos Fracos.....	32
3.2.1. Duração do estágio	32
3.2.2. Ausência de interação com outras direções do INFARMED	32
3.2.3. Recursos informáticos	33
3.3. Oportunidades	33
3.3.1. Desenvolvimento de competências informáticas	33
3.3.2. Inglês técnico	33
3.4. Ameaças.....	34
3.4.1. Recursos humanos	34
Conclusão.....	35
Referências Bibliográficas.....	36

Parte III - O alelo épsilon 4 da APOE como fator de risco genético preponderante no desenvolvimento da forma esporádica da doença de Alzheimer

Lista de Abreviaturas	38
RESUMO.....	40
ABSTRACT	41
1. Introdução.....	42
2. Demência	43
3. Doença de Alzheimer.....	43
3.1. Enquadramento Histórico	44
3.2. Epidemiologia.....	44
3.3. <i>Continuum</i> da doença de Alzheimer: fases da doença e manifestações clínicas	45
3.4. Formas da doença e Fatores de risco.....	46
4. Mecanismos Fisiopatológicos.....	47
4.1. Patologia Amiloide.....	47
4.2. Patologia da Tau.....	50
5. Influência da APOE4 na DA.....	51
5.1. Estrutura e Propriedades Bioquímicas da APOE	51
5.2. O alelo épsilon 4 da APOE como fator de risco	53

5.3. Mecanismos da APOE na DA.....	55
5.3.1. APOE4 e a Patologia Amiloide.....	55
5.3.2. APOE4 e a Patologia da Tau.....	58
6. Abordagens terapêuticas direcionadas à APOE.....	60
6.1. Imunoterapia anti-APOE – anticorpo anti-APOE4 humana (HAE-4)	60
6.2. Edição Genética da APOE pela técnica CRISPR/CAS9.....	61
6.3. Peptídeos Miméticos da APOE	62
7. Conclusão	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Baptista



Sob orientação da Dra. Suzana Branco e da Dra. Isabel Brandão em colaboração
com toda a equipa da Farmácia Baptista

Lista de Abreviaturas

DT – Diretora Técnica

FA – Farmacêutica Adjunta

FB – Farmácia Baptista

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

TA – Técnica Auxiliar

TDT – Técnica de Diagnóstico e Terapêutica

Introdução

Inicialmente, as funções do farmacêutico centravam-se sobretudo na preparação oficial de medicamentos ou substâncias medicamentosas, sendo as farmácias conhecidas na época como Farmácias de Oficina. Contudo, a evolução da atividade farmacêutica direcionou o ato farmacêutico cada vez mais para o cidadão, através do acompanhamento farmacoterapêutico do utente e da prestação serviços de apoio à comunidade, e assim começou a utilizar-se mais recorrentemente a designação de Farmácia Comunitária.¹

A elevada competência técnico-científica dos farmacêuticos, transformou as farmácias em estruturas essenciais e complementares à atividade do Sistema Nacional de Saúde, de forma a garantir a acessibilidade ao medicamento e a equidade na prestação de cuidados de saúde de qualidade a todos os cidadãos. Além disso, o farmacêutico tem uma posição privilegiada para contribuir ativamente nas áreas de gestão da terapêutica, deteção precoce de doenças e promoção de estilos de vida saudáveis, tendo um papel determinante na promoção do uso responsável do medicamento. A formação académica do farmacêutico torna-o num profissional extremamente competente em farmacoterapia e permite-lhe uma maior diferenciação na área do medicamento, relativamente aos restantes profissionais de saúde.¹

A farmácia é cada vez mais um local de referência para os cidadãos em questões relacionadas com a saúde, o que se deve maioritariamente à dedicação e competência profissional dos farmacêuticos, e à relação de proximidade e confiança transmitida pelos profissionais de saúde, que é reconhecida pelos seus utentes.

No âmbito da unidade curricular “Estágio”, inserida no plano de estudos do Mestrado Integrado de Ciências Farmacêuticas (MICF), da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, é obrigatório realizar estágio em Farmácia Comunitária que, de acordo com a Ordem dos Farmacêuticos, se apresenta como a “face mais visível da profissão”.¹ Assim, realizei o meu estágio na Farmácia Baptista (FB), em Vila Real, durante o período de 10 de janeiro de 2022 a 21 de abril de 2022, sob orientação da Dra. Suzana Branco, Diretora Técnica (DT) da FB. Este estágio curricular tem como propósito aproximar a vertente teórica à realidade profissional do exercício da atividade farmacêutica, de forma a aplicar e consolidar os conhecimentos adquiridos previamente durante a formação académica.

O relatório apresentado consiste numa análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*) fundamentada que consiste na identificação dos pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças do estágio realizado.

I. Farmácia Baptista

A Farmácia Baptista, sob direção técnica da Dra. Suzana Branco, encontra-se situada na Rua Dr. Roque da Silveira n.º22-24, na zona histórica da cidade de Vila Real. Fundada em 1858, a FB tornou-se na farmácia mais antiga da cidade, conhecida a nível local pelos seus muitos anos de história. Após um período de fecho temporário reabriu em junho de 2020, com nova gerência sendo explorada até hoje pela Dra. Isabel Brandão, que desempenha funções de farmacêutica adjunta.

Sendo uma farmácia centenária, é caracterizada por um público heterogéneo, com predominância da população idosa, que se identifica com os valores transmitidos pelos profissionais de saúde, que mantêm uma relação de proximidade, confiança e cumplicidade com os seus utentes. Desta forma, há um elevado número de utentes fidelizados na FB, o que permite aos profissionais conhecer o perfil dos utentes e ter uma intervenção profissional adequada e responsável.

A FB é constituída por uma pequena equipa de profissionais qualificados e dotados de experiência em diferentes áreas, o que permite satisfazer as necessidades dos utentes que a frequentam, através de um aconselhamento personalizado e diferenciado. Atualmente, a equipa é constituída por duas farmacêuticas, a diretora técnica e uma farmacêutica adjunta, uma técnica de diagnóstico e terapêutica e uma técnica auxiliar de farmácia.

Funciona de segunda a sexta-feira das 9h às 19h e aos sábados das 9h às 13h, encontrando-se encerrada aos domingos e feriados. Além disso, presta serviço permanente de acordo com a escala de rotatividade implementada para as farmácias do concelho de Vila Real.

2. Análise SWOT

A análise SWOT funciona como uma importante ferramenta de planeamento estratégico, com o objetivo de identificar os pontos fortes (*Strengths*) e pontos fracos (*Weaknesses*) a nível interno, e as oportunidades (*Opportunities*) e ameaças (*Threats*) a nível externo, do meu estágio curricular (Tabela I). Os pontos fortes e os pontos fracos pretendem representar fatores inerentes à instituição que constituem vantagens e desvantagens para o sucesso do estágio realizado. Por outro lado, as oportunidades e as ameaças, permitem destacar aspetos positivos e negativos, numa perspetiva externa, que não estão diretamente relacionados com a instituição.

Tabela I - Análise SWOT - identificação dos Pontos Fortes, Pontos Fracos, Oportunidades e Ameaças

Pontos Fortes	Pontos Fracos
<ul style="list-style-type: none">• Equipa técnica• Plano de estágio• Autonomia na realização de tarefas• Preparação individualizada de medicamentos	<ul style="list-style-type: none">• Localização da farmácia• Escassa preparação de manipulados• Ausência de contacto com o Sifarma 2020®
Oportunidades	Ameaças
<ul style="list-style-type: none">• Formação contínua• Valormed	<ul style="list-style-type: none">• Medicamentos esgotados• Locais de venda de MNSRM (parafarmácias)• Reduzida componente prática durante o MICF• Caligrafia impercetível das receitas manuais

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Equipa técnica e fácil integração na mesma

Como referi anteriormente, a equipa da FB é constituída por uma equipa de profissionais diversificada com experiência em diferentes áreas, o que permite um equilíbrio dinâmico entre a experiência e a maturidade, transmitidas pelos profissionais com mais anos de profissão, e a atualidade e inovação, trazidas pelos profissionais mais jovens da equipa, o que resulta numa partilha constante de conhecimentos entre todos. O facto de existir uma técnica auxiliar com formação na área da cosmética, e sendo o elemento da equipa mais capacitado para fazer aconselhamento nesta área, contribuiu bastante para consolidar e enriquecer os meus conhecimentos relativos à cosmetologia e aprender mais sobre os produtos, facilitando a minha capacidade de autonomia em realizar o aconselhamento adequado a cada utente. Além disso, ter sido a única estagiária na FB durante o meu período de estágio permitiu um maior acompanhamento por parte de cada profissional da farmácia, o que me possibilitou adquirir e consolidar a informação que me foi transmitida de forma mais rápida e lógica.

Desta forma, a competência de todos os profissionais aliada ao espírito de equipa e de entreaajuda, e a simpatia e disponibilidade que sempre demonstraram para me ajudar a ultrapassar as dificuldades que senti durante o meu estágio, foram fundamentais para a minha rápida integração na equipa, o que estimulou e facilitou o meu processo de aprendizagem. A equipa da FB contribuiu muito para o meu crescimento pessoal e profissional.

2.1.2. Plano de estágio

O plano de estágio previamente definido, pressupôs um faseamento de funções a desempenhar, permitindo, de forma coerente e pertinente, a minha integração nos processos de funcionamento interno da farmácia, bem como uma aprendizagem gradual e desenvolvimento de competências, que me permitiram ter mais responsabilidades ao longo do estágio. Apesar do meu estágio ter incidido maioritariamente no atendimento ao público, comecei por realizar funções de *BackOffice*, com a supervisão da DT, nomeadamente, receção e conferência de encomendas, armazenamento dos produtos, controlo de prazos de validade e gestão de devoluções, tendo ainda a oportunidade de assistir à criação da encomenda diária da farmácia. Além disso, realizei a medição de parâmetros bioquímicos e fisiológicos (glicémia, colesterol total, triglicéridos e pressão arterial) o que me permitiu conhecer os diferentes instrumentos de medição e adquirir a prática necessária para a realização autónoma destes serviços. A predominância do atendimento ao público durante o meu estágio permitiu-me contactar frequentemente com o sistema informático implementado na farmácia, o Sifarma 2000[®], tendo desenvolvido prática e agilidade na utilização deste *software*. Adicionalmente, permitiu-me conhecer o perfil dos utentes da farmácia e contactar com diversas situações de aconselhamento farmacêutico e cosmético, o que enriqueceu o meu conhecimento em algumas áreas, nomeadamente, no tratamento da obstipação, infeções urinárias e problemas de circulação venosa, bem como produtos cosméticos direcionados, maioritariamente, a situações de acne em adolescentes e rosácea.

A realização de diversas tarefas ao longo do estágio permitiu-me aplicar e consolidar conhecimentos adquiridos durante o MICEF, e aprender novos conceitos, aproximando a formação teórica com a realidade profissional. Acredito veemente que o plano de estágio foi muito enriquecedor e me ajudou a evoluir consideravelmente, aumentando a minha confiança na realização de todas as tarefas autonomamente.

2.1.3. Autonomia na realização de tarefas

Desde muito cedo no meu estágio, toda a equipa da FB me incentivou a realizar todas as tarefas de forma autónoma, demonstrando a confiança que me foi depositada durante todo o período de estágio e contribuindo para a minha rápida evolução na realização das tarefas. Desta forma, consegui ser autónoma mais rapidamente na execução das atividades diárias da farmácia, o que contribuiu também para a dinâmica do seu funcionamento. Este foi um ponto bastante positivo durante o meu estágio, desde logo pela disponibilidade no esclarecimento

de dúvidas por parte de toda a equipa e pela confiança demonstrada, e também por me ter tornado mais responsável e consciente na realização de cada tarefa.

2.1.4. Preparação individualizada da medicação (PIM)

A FB dispõe de um serviço de preparação individualizada da medicação para os utentes que o solicitem. Um dos pontos que considero mais positivos e relevantes durante o meu estágio foi a possibilidade de assistir e ajudar a preparar a medicação de alguns utentes da farmácia, o que me permitiu destacar ainda mais a importância do farmacêutico para os seus utentes e para a comunidade. A realização deste tipo de serviço permite auxiliar os utentes na toma correta da sua medicação ao longo do dia, através da divisão dos medicamentos pelos vários momentos do dia, em caixas organizadoras da medicação semanal. Normalmente os utentes mais idosos são os que recorrem com maior frequência a este tipo de serviço, principalmente, por motivos de esquecimento ou troca de medicação.

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. Localização da farmácia

Apesar de se encontrar no centro histórico da cidade, a localização da FB mostra-se como um dos grandes problemas com que esta farmácia se tem deparado nos últimos anos, devido à deslocação das grandes lojas para o centro comercial, o que diminuiu o fluxo de pessoas naquela rua. Por outro lado, sendo o centro histórico uma zona de acesso restrito a automóveis e sem lugares de estacionamento nas redondezas, as pessoas optam por frequentar as farmácias com melhores condições de acesso. Sendo uma farmácia onde a maioria dos utentes são pessoas de idade avançada e/ou com mobilidade reduzida, a deslocação à farmácia torna-se um desafio nestas condições. Além de ser complicado para certos utentes, a localização da FB representa também um problema para os funcionários e estagiários, na medida em que obriga a fazer uma maior deslocação a pé para chegar à farmácia.

2.2.2. Escassa preparação de manipulados

A preparação de manipulados na FB é uma tarefa muito rara, tendo assistido apenas à preparação de um creme. Os manipulados produzidos nesta farmácia são maioritariamente Fórmulas Magistrais, ou seja, manipulados que são preparados de acordo com uma receita médica que especifica o utente a quem o medicamento se destina. Uma vez que a procura deste tipo de produto é pouco frequente, a farmácia não tem disponível uma grande variedade e quantidade de matérias-primas, o que implica a rejeição de alguns pedidos. Todos os cálculos necessários para a preparação dos manipulados são realizados de acordo com o previsto na

lei, sendo o processo de manipulação realizado segundo as Boas Práticas de Fabrico de Manipulados. Tive a oportunidade de presenciar todo o processo de preparação de um manipulado, todavia, a realização esporádica desta atividade na FB, não me permitiu assistir à preparação de uma grande variedade de manipulados, nem preparar autonomamente um manipulado.

2.2.3. Ausência de contacto com o Sifarma 2020[®]

Um dos aspetos que considero ter sido um ponto fraco no meu estágio foi a impossibilidade de contactar com a versão mais atualizada do Sifarma[®] (Sifarma 2020[®]), uma vez que a FB trabalha apenas com o Sifarma 2000[®] devido a atrasos na instalação da versão mais atual. Desta forma, não pude aplicar os conhecimentos adquiridos durante o MICF, na unidade curricular de Organização e Gestão Farmacêutica, nem desenvolver novas aptidões, o que limitou a minha aprendizagem, na medida em que poderia vir a ser útil no futuro, aquando da entrada no mercado de trabalho. A maioria das farmácias já tem disponível o Sifarma 2020[®], e contactar com este software permitir-me-ia desenvolver habilidades benéficas enquanto futura farmacêutica.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Formação contínua

O avanço das terapêuticas converge com os avanços tecnológicos relacionados com o uso dos medicamentos e por esse motivo é essencial que todos os profissionais de saúde mantenham uma atualização constante dos seus conhecimentos, de forma a prestar um serviço de qualidade aos seus utentes e um aconselhamento farmacêutico de excelência. Esta atualização de conhecimentos é alcançável sobretudo pela oportunidade de formações, tanto internas como externas, possibilitadas pela farmácia.

Na FB as formações eram maioritariamente internas, realizadas pelos delegados de informação médica que se dirigiam à farmácia, com o objetivo de apresentar e promover os produtos dos laboratórios com os quais trabalham, e proporcionar pequenas formações para transmitir informação mais concreta sobre os seus produtos e as características que os diferenciam dos restantes produtos. Destacam-se os produtos Vibrocil[®] (GlaxoSmithKline), Flabien[®] (Krka), Stressfytol[®] (Tilman) e Artelac[®] (BAUSCH+LOMB). Desta forma, os profissionais que trabalham na farmácia ficam mais aptos e seguros do aconselhamento que fazem aos seus utentes e da informação que transmitem aquando da venda. Além destas, tive também a oportunidade de assistir a uma formação externa da *Aboca*, com o intuito de apresentar os seus produtos mais recentes para o tratamento fisiológico da obstipação

(Sollievo Fisiolax[®] e Melilax[®]), o que me permitiu adquirir conhecimentos muito úteis para o aconselhamento e atendimento ao público.

Estas formações foram uma grande vantagem do meu estágio e permitiram enriquecer o meu conhecimento enquanto futura farmacêutica, uma vez que tive a oportunidade de conhecer novos produtos e perceber como funcionam e em que situações posso aconselhá-los de forma adequada. Assim, considero que as formações a que tive a oportunidade de assistir me prepararam ainda mais para a próxima etapa desta longa jornada, a entrada no mercado de trabalho.

2.3.2. Valormed

A Valormed é uma sociedade sem fins lucrativos com a responsabilidade da gestão dos resíduos de embalagens vazias e medicamentos fora de uso. Uma das suas iniciativas centra-se na distribuição de contentores pelas farmácias, com o intuito de promover a “reciclagem” de embalagens vazias ou dos medicamentos que já não são usados.² Neste sentido, o farmacêutico funciona como intermediário, apelando diariamente aos seus utentes que adiram a esta iniciativa, de forma a contribuir para a preservação do meio ambiente e para a proteção da saúde pública. Na FB a adesão é bastante elevada, visto que durante o dia são várias as vezes em que há a necessidade de colocar novos contentores. Deste modo, a promoção da utilização dos contentores Valormed feita pela equipa da FB, através de ações de sensibilização, nas quais tive a oportunidade de colaborar, contribui para a educação da população, culminando na proteção da saúde pública.

2.4. Ameaças

2.4.1. Medicamentos esgotados

Durante o período de estágio na FB foram várias as vezes que me deparei com a existência de medicamentos esgotados em todos os armazenistas, o que levou ao descontentamento dos utentes, afetando, em alguns casos, a sua relação com a farmácia. Este tipo de situações está para além do controlo por parte da farmácia e dos profissionais que lá trabalham, contudo, muitos utentes não se mostravam compreensivos o que acabava por ser desagradável e frustrante tanto para mim, enquanto estagiária, como para os profissionais da farmácia. Um exemplo desta situação foi o caso do Anafranil[®] 25 mg, cuja substância ativa é a clomipramina, um antidepressivo tricíclico, utilizado no tratamento de estados depressivos de etiologias e sintomatologias diversas.³ Uma vez que a Alfasigma S.p.A. é a única empresa titular de Autorização de Introdução no Mercado deste medicamento, e não havendo ainda medicamentos genéricos, não era possível arranjar uma alternativa terapêutica tendo de

encaminhar os utentes ao seu médico, para que se fizesse uma alteração adequada da medicação. Além deste, também o Ozempic® 1 mg, cuja substância ativa é o semaglutido, utilizado no tratamento da diabetes *mellitus* tipo 2 em adultos, se encontrava esgotado.⁴

Esta realidade representa uma grande ameaça à saúde pública, principalmente, nos casos em que falta medicamentos de uso crónico, tendo sido também um fator condicionante ao normal funcionamento do meu estágio, já que me deparei com o desagrado dos utentes e me senti numa posição incapaz de satisfazer as suas necessidades.

2.4.2. Locais de venda de MNSRM

Cada vez mais o acesso a medicamentos e produtos de saúde, que, anteriormente, só eram disponibilizados nas farmácias, se encontra facilitado pela existência de locais de venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM). A existência destes locais constitui uma ameaça evidente à viabilidade económica das farmácias comunitárias, na medida em que o elevado volume de compras realizado por estes estabelecimentos lhes permite o acesso a preços de custo significativamente mais baixos, e consequentemente os preços de venda ao público praticados são muito mais baixos do que aqueles que se praticam nas farmácias. A situação socioeconómica da população portuguesa causa uma grande preocupação em economizar, o que leva as pessoas a comparar preços entre as diversas farmácias e locais de venda de MNSRM, para adquirir o produto onde este for mais barato. Além disto, a existência destes locais pode implicar um risco para a saúde pública, dado que a formação científica dos profissionais que trabalham nestes estabelecimentos é insuficiente, o que muitas vezes leva à falta do aconselhamento adequado. Um exemplo disso é a pílula do dia seguinte, que tem um elevado número de riscos associados, e que pode trazer malefícios para a pessoa se não tiver o aconselhamento adequado.

No decorrer do meu estágio, esta ameaça foi visível em alguns atendimentos, nos quais não se realizou a venda dos produtos, que os utentes mencionaram que existiam a um preço mais acessível noutros locais.

Assim, os locais de venda de MNSRM representam uma ameaça, tanto a nível económico, como pela utilização inconsciente do medicamento, e desta forma, é essencial promover a capacidade que só as farmácias têm em esclarecer os seus utentes e prestar um aconselhamento seguro e de qualidade.

2.4.3. Reduzida componente prática durante o MICF

Apesar do plano de estudos do MICF englobar uma componente teórica e uma componente prática, a verdade é que a parte prática em contexto real de trabalho é quase nula, o que resulta numa falta de experiência aquando da chegada ao estágio curricular, etapa esta em que temos, efetivamente, contacto com a realidade profissional. Embora seja possível realizar estágios de verão, estes não são de cariz obrigatório, o que na minha opinião deveria motivar alterações no plano de estudos neste âmbito, de forma a preparar ainda mais os estudantes para o mundo do trabalho. Por outro lado, a falta de experiência em contexto real traz consequências como a falta de confiança no atendimento, uma vez que, mesmo tendo conhecimentos teóricos, a sua aplicação em termos práticos é muito reduzida, mostrando a discrepância que existe entre o plano teórico e o prático. Desta forma, a existência de pelo menos um estágio por ano de curso, era uma mais-valia para nós, enquanto estagiários e futuros farmacêuticos, na medida em que nos proporciona um maior contacto com o mundo do trabalho e nos permite desenvolver mais segurança e autoconfiança nos atendimentos.

2.4.4. Caligrafia impercetível das receitas manuais

O Despacho de 25 de fevereiro de 2016 tornou obrigatória a prescrição de medicamentos via receita sem papel para todas as entidades do Serviço Nacional de Saúde (SNS).⁵ Desta forma, as receitas manuais aparecem cada vez menos nas farmácias, sendo estas prescritas apenas em algumas situações excecionais, como o caso de falha informática. Este tipo de receitas requer um maior rigor e atenção no que diz respeito à verificação detalhada de todos os campos de preenchimento por parte do farmacêutico.

Durante o meu estágio, deparei-me com algumas receitas manuais, cuja caligrafia era totalmente impercetível. Isto levou à demora do atendimento, causando algum transtorno tanto para o utente como para os profissionais da farmácia que não estavam a conseguir decifrar o medicamento prescrito. Além disso, este tipo de receitas pode levar a uma interpretação errada por parte do farmacêutico, promovendo erros na dispensa dos medicamentos. Deste modo, considero que as receitas manuais se tornam uma possível ameaça tanto para o normal funcionamento da farmácia, no que diz respeito ao atendimento e à demora na dispensa dos medicamentos prescritos, como para os estagiários que têm menos experiência, o que torna ainda mais difícil perceber certos tipos de letra.

3. Casos Clínicos

Caso I

A.F., utente do sexo feminino, com cerca de 30 anos, apresenta-se na farmácia ao início da tarde com dor de garganta ligeira, tosse produtiva e nariz entupido, referindo ainda que durante a manhã tinha febre (37,7°C). Pede para realizar um teste de antígeno SARS-CoV-2, obtendo-se um resultado negativo, e solicitou posteriormente medicação para aliviar o seu estado de saúde. A.F. pratica desporto regularmente e tem uma alimentação saudável.

Aconselhamento

A.F. é utente habitual da FB e não apresenta histórico de medicação crónica nem qualquer tipo de condição que pudessem limitar o aconselhamento farmacêutico. Desta forma, foi recomendada a toma de Grippostad[®], 1 comprimido de 8 em 8 horas, num período máximo de 5 dias, tempo após o qual deve consultar um médico, se os sintomas persistirem. Grippostad[®] é um MNSRM de venda exclusiva em farmácia, que combina 400 mg de ibuprofeno com 10 mg de cloridrato de fenilefrina, sendo indicado para o alívio de sintomas associados a gripes e constipações. Assim, combina-se a ação anti-inflamatória do ibuprofeno com a ação descongestionante da fenilefrina, o que vai contribuir para o abaixamento da febre, redução da dor de garganta e diminuição da congestão nasal, referida pela utente como “nariz entupido”.⁶ Foi ainda aconselhada a toma de 10 ml de Grintuss[®] Adulto xarope, três vezes ao dia, após as principais refeições, enquanto tiver tosse.⁷ Foram ainda recomendadas medidas não farmacológicas, como a ingestão de água e de bebidas quentes, para tratar a tosse e diminuir a dor de garganta, respetivamente. A utente foi aconselhada a consultar um médico, no caso de não haver melhorias ou agravamento dos sintomas.

Caso II

J.P., utente do sexo masculino, com cerca de 50 anos, sem patologias base e sem medicação crónica, dirige-se à farmácia com queixas de desconforto abdominal e obstipação, há pelo menos 1 semana, mencionando que já utilizou Laevolac[®], mas que não quer o mesmo produto porque não resolveu a sua situação e lhe causou ainda mais “inchaço” e dores abdominais.

Aconselhamento

Tendo em conta a informação fornecida pelo utente e sabendo que o Laevolac[®], um laxante osmótico constituído por lactulose, não surtiu efeito e agravou o seu desconforto abdominal,

um efeito secundário possível, foi recomendado Sollievo Fisiolax[®], um dispositivo médico à base de substâncias naturais, que atua segundo um mecanismo de ação fisiológico e não farmacológico. Sollievo Fisiolax[®] estimula a motilidade intestinal, aumenta a hidratação das fezes e protege a parede intestinal, o que resulta na evacuação de fezes moles e sem a perda excessiva de água e eletrólitos. A posologia pode variar de 1 a 3 comprimidos por toma, à noite, conforme a necessidade, sendo que a dose correta é a mínima suficiente para favorecer o trânsito intestinal sem produzir fezes líquidas.⁸ Assim, foi aconselhada a toma inicial de 1 comprimido à noite, com um copo abundante de água, sugerindo que aumentasse a dose caso 1 só comprimido não fosse suficiente para produzir efeito, nunca ultrapassando os 3 comprimidos por toma. O utente foi advertido para o facto de que após a toma de Sollievo Fisiolax[®], este só produziria efeito no dia seguinte pela manhã, de forma a evitar o aumento desnecessário da dose pelo utente.⁸ Além disso, salientou-se a importância da ingestão de líquidos, do consumo diário de uma certa quantidade de fibras e a prática de exercício físico, principalmente, a realização de caminhadas diárias. Adicionalmente, sugeriu-se a não utilização de roupas apertadas e a criação de hábitos de evacuação (a uma hora regular e sem pressa). No caso de não haver melhorias ou agravamento da obstipação, o utente foi aconselhado a recorrer ao seu médico.

Caso III

C.A., uma jovem com cerca de 20 anos, dirige-se à farmácia com queixas de prurido vaginal intenso, ardor e corrimento esbranquiçado, sem odor forte associado. Refere ainda que sente desconforto na zona vaginal solicitando algo que resolva a sua situação.

Aconselhamento

Dados os sintomas relatados pela jovem, deduziu-se que, muito provavelmente, a jovem estaria com uma candidíase vaginal, uma infeção fúngica vaginal provocada pelo fungo *Candida albicans*. Desta forma, foi aconselhado Gino-canesten[®] creme vaginal, um MNSRM constituído por 10mg/g de clotrimazol, um antifúngico com um amplo espetro de atividade. Foi aconselhado lavar bem as mãos antes e após usar Gino-canesten[®] creme, explicando à jovem que deveria introduzir o aplicador cheio de creme vaginal o mais profundamente possível na vagina, uma vez por dia, à noite, ao deitar, durante 6 dias consecutivos. Foi ainda referido que, caso sentisse irritação na zona externa, poderia aplicar o creme para aliviar o prurido e que o tratamento devia ser feito fora do período menstrual. Além disso, a jovem foi alertada para o facto de que deveria recorrer ao seu médico, se continuasse com sintomas 7 dias após o

término do tratamento.⁹ Além desta medida farmacológica, foi destacada a importância de utilizar roupa interior de algodão trocando-a regularmente, evitar banhos de imersão e com água muito quente, e evitar o uso de produtos perfumados na zona íntima que possam ser agressivos e alterar o pH vaginal. Foi ainda recomendado LETIfem[®] Gel Íntimo Sensitive para utilizar na sua higiene íntima, uma formulação com ativos hidratantes e emolientes, que proporcionam uma limpeza suave e eficaz, aliviando o ardor e a irritação e mantendo o pH fisiológico, aumentando o conforto da jovem.¹⁰ No caso de não haver melhorias ou agravamento da situação, foi aconselhado que a jovem procurasse ser consultada por um médico.

Caso IV

T.N. dirigiu-se à farmácia com a sua filha, S.N., de 15 anos, que se queixava frequentemente da sua pele oleosa e com acne, principalmente, na cara, e pede um produto que ajude a reduzir a acne da sua filha. T.N. refere que a sua filha não toma qualquer tipo de medicação nem utiliza outros produtos cosméticos.

Aconselhamento

Após uma observação cuidada da pele de S.N. a escolha dos produtos a aconselhar passou por loções de limpeza de pele isentos de sabão e com um pH equilibrado, e cremes hidratantes isentos de óleo. Foi aconselhada a lavagem do rosto com o gel de limpeza Effaclar Gel Mousse Purificante da La Roche-Posay[®], que permite a limpeza suave da pele oleosa sem secar, removendo as impurezas e o excesso de sebo, deixando a pele limpa e com uma sensação de frescura. Foi explicado a S.N. o modo de aplicação do gel de limpeza: misturar o gel de limpeza com um pouco de água morna na mão até fazer espuma, e posteriormente aplicar na zona T do rosto e no pescoço, massajando suavemente em movimentos circulares, e finalizando com o enxaguamento com água fria. Foi ainda explicado que a água morna permite a desobstrução dos poros, permitindo uma maior ação do gel de limpeza, e a água fria ajuda a fechar os poros.¹¹ Adicionalmente, aconselhou-se o creme Effaclar Duo Plus da La Roche-Posay[®], com uma textura hidratante e matificante, que vai ajudar a limpar eficazmente as borbulhas existentes e prevenir a sua recorrência, limitando o risco de marcas. Da mesma forma, explicou-se o modo de aplicação: colocar o tamanho de uma noz de creme na palma da mão e aquecer com a outra mão de forma a facilitar a sua absorção; massajar delicadamente com movimentos ascendentes e da parte interior do rosto para a parte exterior.¹²

Caso V

M.J., utente do sexo feminino, com cerca de 70 anos, deslocou-se à farmácia porque reparou que ultimamente a unha do dedão do pé está mais espessa, com uma cor mais amarelada na parte distal e sem brilho. Refere ainda que a unha está mais quebradiça e esfarela facilmente. Solicita então um produto que ajude a tratar a sua unha pois sente-se incomodada com o seu aspeto.

Aconselhamento

Tendo em conta a descrição feita pela utente, facilmente se percebeu que se tratava de uma onicomicose, uma infeção fúngica que afeta maioritariamente as unhas dos pés. Desta forma, foi aconselhado Myco Clear[®], uma solução, em forma de caneta, uma forma mais rápida e prática de tratar a onicomicose. Myco Clear[®] ajuda a tratar e a prevenir a infeção fúngica da unha, através da criação de uma barreira protetora sobre a unha, que isola a unha de agressores externos e ambientais. Além disso, devido à sua formulação, ajuda a manter o pH ácido da unha, permitindo controlar o seu microambiente e evitando o crescimento de fungos. Recomendou-se a aplicação de Myco Clear[®] duas vezes por dia, de manhã e à noite, antes de dormir, até que o crescimento da unha esteja normalizado e a parte danificada tenha desaparecido. Normalmente, duas semanas de tratamento são suficientes para notar sinais de melhoria. Advertiu-se a utente para a necessidade de lavar cuidadosamente a zona afetada antes da aplicação de Myco Clear[®], tendo o cuidado de após a aplicação da solução antifúngica não molhar a zona. Além disso, foi explicado à utente que deveria aplicar uma quantidade suficiente de produto para cobrir a unha, evitando o contacto com a pele em redor.¹³

Conclusão

A realização do estágio em Farmácia Comunitária marca a etapa final da formação teórica e prática que temos ao longo de 5 anos, durante o MICF, permitindo-nos aplicar todos os conhecimentos adquiridos em contexto real de trabalho. Para além da integração e consolidação dos conhecimentos técnico-científicos, foi-me possível desenvolver competências pessoais essenciais ao desempenho da profissão farmacêutica.

Este estágio permitiu-me vivenciar, na primeira pessoa, a importância do farmacêutico na prestação de cuidados de saúde de qualidade à população, destacando a relevância do farmacêutico comunitário na vida das pessoas, que recorrem às farmácias, como primeira linha, em situações de urgência, bem como para esclarecer dúvidas relacionadas com a sua medicação, e, muitas das vezes, apenas para cinco minutos de conversa. A farmácia comunitária assume-se, assim, como um elemento-chave na prestação de cuidados de saúde, realçando a relação de proximidade e confiança que existe entre o farmacêutico e os seus utentes.

Reconheço que o estágio na FB mostrou ser uma das vertentes mais enriquecedoras do meu percurso académico, por todo o conhecimento e valores transmitidos pelos profissionais que lá trabalham, fazendo-me evoluir significativamente, tanto a nível profissional como pessoal. Conclui o estágio com a certeza de que estou mais preparada para a entrada no mercado de trabalho, quer pela autonomia e autoconfiança no aconselhamento e atendimento ao público que fui adquirindo, quer pela destreza e capacidade de resolução de problemas, motivadas por toda a equipa da FB, e que me vão proporcionar, certamente, um futuro promissor.

Enquanto futura farmacêutica, e após a conclusão do estágio em farmácia comunitária, estou segura em dizer que o farmacêutico, como agente de saúde pública, é e sempre será um elo de extrema importância entre a evolução científica e a comunidade.

Referências Bibliográficas

1. Ordem dos Farmacêuticos – **Farmácia Comunitária - Áreas Profissionais**. (2022). [Acedido a 25 de abril de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
2. VALORMED – **Quem somos**. [Acedido a 25 de abril de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.valormed.pt/paginas/2/quem-somos/>
3. INFARMED, I.P. – **Resumo das Características do Medicamento - Anafranil®**. (2022). [Acedido a 3 de maio de 2022]. Disponível na Internet: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
4. Agência Europeia de Medicamentos – **Resumo das Características do Medicamento - Ozempic®**. [Acedido a 3 de maio de 2022]. Disponível na Internet: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/ozempic-epar-product-information_pt.pdf
5. Serviços Partilhados do Ministério da Saúde – **Receita Sem Papel**. [Acedido a 18 de maio de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.spms.min-saude.pt/2019/04/receita-sem-papel-2/>
6. INFARMED, I.P. – **Resumo das Características do Medicamento - Grippostad®**. (2020). [Acedido a 18 de maio de 2022]. Disponível na Internet: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
7. Aboca – **Grintuss® Adult xarope**. [Acedido a 18 de maio de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.grintuss.pt/grintuss/grintuss-adult-xarope/>
8. Aboca – **Sollievo Fisiolax®**. [Acedido a 20 de maio de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.aboca.com/product/sollievo-fisiolax-27-comprimidos/>
9. Bayer – **Gino-canesten® creme vaginal**. [Acedido a 20 de maio de 2022]. Disponível na Internet: https://www.antifungicos.bayer.pt/produtos/saude-intima-feminina/gino-canesten-creme-vaginal?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_term=gino%20canesten&utm_content=Gino-Canesten_Exact&utm_campaign=PT_PT_Brand Produto_Gyno-Canesten_Protect-the-Brand_Brand_AI
10. LETIPharma – **Cuidado da Mulher - LETIfem® Gel Íntimo Sensitive**. [Acedido a 20 de maio de 2022]. Disponível na Internet: https://www.leti.com/dermatologia/pt/cuidado-da-mulher/letifem-gel-intimo-sensitive_115725

11. La Roche-Posay® – **Effaclar Gel Mousse Purificante**. [Acedido a 22 de maio de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.laroche-posay.pt/effaclar/effaclar-gel-mousse-purificante>
12. La Roche-Posay® – **Effaclar Duo Plus**. [Acedido a 22 de maio de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.laroche-posay.pt/effaclar/effaclar-duo-plus>
13. Jaba-recordati – **Dispositivos Médicos - Myco Clear**®. [Acedido a 23 de maio de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.jaba-recordati.pt/pt/produtos-farmaceuticos/dispositivos-medicos/myco-clear>

Parte II

Relatório de Estágio em Assuntos Regulamentares

INFARMED, I.P.



Sob orientação da Dra. Dina Lopes em colaboração com toda a equipa da
Direção de Avaliação de Medicamentos / Unidade de Manutenção do Mercado
(DAM/UMM)

Lista de Abreviaturas

AIM – Autorização de Introdução no Mercado

DAM – Direção de Avaliação de Medicamentos

INFARMED – Autoridade Nacional

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*

UMM – Unidade de Manutenção do Mercado

Introdução

A Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra desenvolveu um plano de estudos que proporciona aos estudantes do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) a oportunidade de realizar um estágio curricular numa área farmacêutica do seu interesse, além do estágio obrigatório em Farmácia Comunitária. De entre as várias oportunidades permitidas, há a possibilidade de realizar um estágio numa das direções da Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde – INFARMED, I.P., das quais se destaca a disponibilidade da Direção de Avaliação de Medicamentos (DAM), da Direção de Gestão do Risco de Medicamentos, da Direção de Produtos de Saúde e da Direção de Avaliação das Tecnologias de Saúde, para acolher os estagiários, de forma a contribuir para a sua formação e enriquecimento do seu conhecimento nesta que é uma área de extrema importância no ciclo de vida do medicamento.

A área dos assuntos regulamentares do medicamento despertou o meu interesse ao longo do curso devido à importância do farmacêutico, que se encontra envolvido em todas as etapas do medicamento, desde o seu desenvolvimento à sua comercialização. Além disso, após a introdução do medicamento no mercado, o farmacêutico exerce um papel importante na monitorização do percurso do medicamento e da informação a ele associada, que está disponível para os profissionais de saúde e para os cidadãos. De tal forma, a escolha de uma instituição para desenvolver os meus conhecimentos nesta área não foi difícil dada a excelência e importância do INFARMED como entidade reguladora. Decidi então realizar o meu estágio na DAM devido ao plano de estágio apresentado. Mais concretamente, o estágio foi realizado na Unidade de Manutenção no Mercado (UMM), com a duração de 3 meses, sob a orientação da Dra. Dina Lopes e a colaboração de toda a equipa da DAM.

A possibilidade de realizar mais do que um estágio curricular permite-nos contactar com mais do que uma área da atividade farmacêutica, constituindo uma ótima oportunidade de aprendizagem e aproximação com a realidade profissional. Desta forma, somos instruídos para sermos futuros profissionais farmacêuticos multidisciplinares e competentes.

Este relatório tem como finalidade apresentar os aspetos relevantes do estágio curricular sob a forma de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*) fundamentada, consistindo na identificação dos pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças experienciados ao longo do estágio.

I. INFARMED – Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.

O INFARMED é um instituto público, criado em 1993, sendo um dos objetivos da sua criação a sua participação ativa no novo Sistema Europeu do Medicamento, assumindo-se naquela altura como uma das poucas autoridades europeias que integrava todas as valências relativas ao medicamento. O Infarmed está indiretamente integrado na administração do Estado, provido de autonomia administrativa, financeira e património próprio, e exerce a sua atividade sob a tutela do Ministro da Saúde.^{1,2} A missão do INFARMED consiste em regular e supervisionar os medicamentos de uso humano, dispositivos médicos e produtos cosméticos e de higiene corporal, segundo os mais elevados padrões de proteção da saúde pública, e garantir o acesso de medicamentos e produtos de saúde que demonstrem qualidade, eficácia e segurança, quer aos profissionais de saúde, quer aos cidadãos.²

Com sede no Parque de Saúde de Lisboa, o INFARMED é constituído por 2 grandes grupos, os órgãos, nos quais estão incluídos o Conselho Diretivo, Fiscal Único, Conselho Consultivo, Comissões Técnicas Especializadas e o Conselho Nacional de Publicidade de Medicamentos e Produtos de Saúde; e as unidades orgânicas, que se subdividem em funções de negócio (áreas de atribuição), na qual se inclui a DAM, e funções de suporte (áreas de gestão), como se encontra exposto no organograma apresentado (Figura 1).³

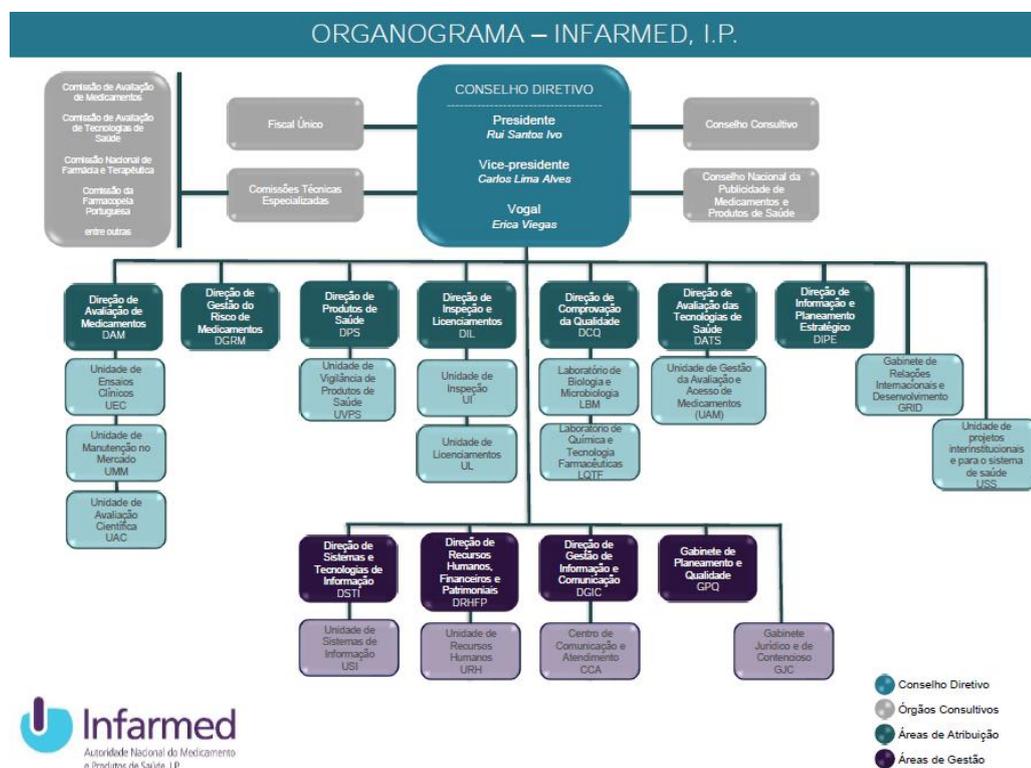


Figura I - Organograma do INFARMED

2. Direção de Avaliação de Medicamentos

A Direção de Avaliação de Medicamentos (DAM), dirigida pela Dra. Marta Marcelino, tem como principais objetivos assegurar as atividades necessárias aos procedimentos de registo, avaliação e autorização de introdução no mercado de medicamentos de uso humano, e também garantir as atividades relacionadas com a sua manutenção no mercado.⁴

Divide-se em 3 subunidades distintas, especializadas por área de intervenção – a Unidade de Ensaios Clínicos (UEC), a Unidade de Manutenção no Mercado (UMM) e a Unidade de Avaliação Científica (UAC). O meu estágio na DAM enquadrou-se na UMM, mais concretamente, como gestora de processos de alterações aos termos da Autorização de Introdução no Mercado (AIM) concedida por procedimento descentralizado e de reconhecimento mútuo. A UMM tem como função principal assegurar as atividades relacionadas com a manutenção no mercado de medicamentos já autorizados, nomeadamente as que visam a autorização de alterações e renovações de AIMs, bem como revogações ou declarações de caducidade.⁴

O trabalho desenvolvido na UMM, durante o período de estágio, consistia fundamentalmente em validar, avaliar e, conseqüentemente, aprovar ou indeferir pedidos de alterações a AIMs ou pedidos de renovações. Mais precisamente, era necessário fazer a validação dos processos, que consistia em analisar cada processo com base numa *check list* pré-definida, com verificação dos requisitos a cumprir pelos requerentes, de forma a ser possível validar o processo e, posteriormente, verificar as alterações propostas de forma a alcançar a sua aprovação.

Neste sentido, as formações iniciais incluídas no plano de estágio permitiram-nos ganhar conhecimentos base para desenvolver as tarefas que mais tarde nos seriam propostas, de forma mais autónoma e organizada.

3. Análise SWOT

A análise SWOT funciona como uma importante ferramenta de planeamento estratégico, com o objetivo de identificar os pontos fortes (*Strengths*) e pontos fracos (*Weaknesses*) a nível interno, e as oportunidades (*Opportunities*) e ameaças (*Threats*) a nível externo, do meu estágio curricular (Tabela I). Os pontos fortes e os pontos fracos pretendem representar fatores inerentes à instituição que constituem vantagens e desvantagens para o sucesso do estágio realizado. Por outro lado, as oportunidades e as ameaças, permitem

destacar aspetos positivos e negativos, numa perspetiva externa, que não estão diretamente relacionados com a instituição.

Tabela 2 - Análise SWOT – identificação dos Pontos Fortes, Pontos Fracos, Oportunidades e Ameaças

Pontos Fortes	Pontos Fracos
<ul style="list-style-type: none"> • Formação inicial • Autonomia e responsabilidade • Conhecimentos e competências adquiridas • Competência da equipa da DAM • Plataformas eletrónicas internas 	<ul style="list-style-type: none"> • Duração do estágio • Ausência de interação com outras direções do INFARMED • Recursos informáticos
Oportunidades	Ameaças
<ul style="list-style-type: none"> • Desenvolvimento de competências informáticas • Inglês técnico 	<ul style="list-style-type: none"> • Recursos humanos

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Formação inicial

Na primeira semana de estágio, tivemos um plano de formações essencial para a compreensão da dinâmica da UMM e para o eficiente desempenho das funções que viríamos a realizar durante o estágio. Estas formações mostraram-se notavelmente úteis, uma vez que me permitiram consolidar matérias anteriormente aprendidas e adquirir um conhecimento mais detalhado sobre vários conteúdos da área dos assuntos regulamentares, pouco desenvolvidos no decorrer do curso. Destaca-se a importância da explicação das bases de dados, que fizeram parte das atividades diárias desenvolvidas durante o estágio, relativamente ao seu correto preenchimento e compreensão do seu funcionamento, contudo apenas com a prática consegui ter uma noção mais certa e alargada de todos os passos cruciais envolvidos na validação dos processos. Desta forma, a realização das tarefas foi conseguida com maior assertividade e eficiência ao longo do tempo, pois foi possível assimilar toda a informação transmitida nas formações e compreender a sua aplicação aquando da parte prática.

3.1.2. Autonomia e responsabilidade

Após o período inicial de formação e familiarização com as ferramentas de trabalho, cruciais para o desenvolvimento das funções pretendidas, foi possível começar a desempenhar as tarefas propostas de forma independente e com maior sentido de responsabilidade dada a

importância das tarefas realizadas na DAM. As atividades desenvolvidas estão diretamente relacionadas com a disponibilidade da informação sobre os medicamentos aos profissionais de saúde e aos cidadãos e, por isso, era fundamental compreender todas as etapas de validação dos processos e esclarecer as dúvidas que iam surgindo, e que consegui de forma autónoma esclarecer, na maioria das vezes através das várias *guidelines* e regulamentos disponíveis, procurando a ajuda dos colaboradores disponíveis quando não conseguia chegar a uma conclusão. Deste modo, a realização das tarefas propostas de forma individual permitiu-me superar as minhas dificuldades nesta área pouco abordada ao longo do curso de MICF e desafiou-me a desenvolver um maior sentido de responsabilidade.

3.1.3. Conhecimentos e competências adquiridas

A legislação regulamentar que envolve o medicamento, como os Regulamentos, as Diretivas, os Decretos-lei e as Normas Orientadoras, são a base de trabalho de uma autoridade regulamentar como o INFARMED. A complexidade desta área da atividade farmacêutica faz surgir dúvidas relacionadas com determinados aspetos de um processo em avaliação, sendo uma situação bastante comum. Assim, o contacto constante com a legislação, permitiu-me esclarecer essas dúvidas e possibilitou o desenvolvimento de conhecimentos mais específicos na área dos assuntos regulamentares, que podem ser úteis na minha vida profissional como futura farmacêutica. Estes documentos mostram-se como importantes ferramentas de trabalho no que diz respeito à gestão de alterações aos termos de AIM, pois permitem identificar facilmente os elementos necessários para a análise de cada alteração individualmente. É ainda importante referir que como cada processo é singular, as dúvidas que foram surgindo eram variadas e, portanto, a aprendizagem foi mais enriquecedora e diversificada no que se refere à legislação do medicamento.

3.1.4. Competência da equipa da DAM

O surgimento de diversas dúvidas na área regulamentar requer uma equipa coesa e competente, capaz de se entrelajar na resolução dos problemas. Durante o meu estágio tive a oportunidade de contactar com uma equipa de profissionais que se demonstrou muito altruísta, disponível para ajudar e esclarecer todas as dúvidas que foram surgindo, o que contribuiu de forma muito positiva para o desempenho das funções que me foram concedidas, de forma simples e rápida, e enriquecendo ainda mais o meu estágio.

3.1.5. Plataformas eletrónicas internas

O INFARMED conta com várias plataformas eletrónicas internas que facilitam a organização da elevada quantidade de informação de que faz uso, permitindo o seu fácil acesso

quando necessário. Estas plataformas são essenciais ao normal funcionamento da UMM e fazem parte da vida diária de qualquer gestor de processos. Por este motivo, é fundamental a sua correta compreensão e preenchimento, nomeadamente, no que diz respeito ao CTS (*Communication and Tracking System*), SMUH-ALTER (Sistema de Medicamentos de Uso Humano- Alterações) e GiMed (Gestão de Informação de Medicamentos), que são as plataformas mais utilizadas e são cruciais para o bom desempenho das funções diárias. Mais uma vez, aqui se destaca a importância da formação inicial que nos foi transmitida, e que nos permitiu conhecer estas plataformas e saber como utilizá-las de forma adequada às atividades da UMM. Trabalhar com estas plataformas foi um ponto forte do meu estágio no sentido em que me permitiu compreender melhor como realizar cada uma das diversas etapas dos processos, além de ter a possibilidade de trabalhar com plataformas específicas de uma autoridade regulamentar, que facilitam o trabalho diário de todos os profissionais.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Duração do estágio

Tendo em conta a complexidade e as várias vertentes de trabalho desempenhas pela UMM, realizar um estágio de apenas 3 meses torna-se insuficiente para experienciar toda a realidade profissional desta unidade da DAM. No início do estágio fui alocada na UMM, o departamento de pós-AIM, que consistia em analisar e avaliar pedidos de alterações e renovações aos termos de AIM, não tendo sido possível contactar com todas as tipificações de alterações, devido à exigência de algumas delas e à duração do calendário dos procedimentos, que não me iria permitir concluir os processos, dentro do período de estágio implementado. Assim, apenas consegui desenvolver aptidões no que concerne a alterações do tipo IA e IB, ficando excluídas as alterações do tipo II. O mesmo aconteceu com as renovações, onde só foi possível avaliar processos de renovações curtas, com procedimentos simplificados, pois eram as únicas que me permitiam começar e terminar o calendário implementado de 30 dias. Desta forma, consegui adquirir algum conhecimento nesta área de trabalho, contudo a duração do estágio foi, para mim, um ponto fraco, já que me impediu de experienciar e contactar com outras áreas de trabalho da UMM, como aconteceu com os processos de alterações do tipo II e as renovações completas.

3.2.2. Ausência de interação com outras direções do INFARMED

Associado ao curto período de estágio desenvolvido no INFARMED, a impossibilidade de contactar com outras direções revelou-se um ponto fraco do estágio, visto que não consegui uma visão global de todas as funções desempenhadas por esta grande organização,

nem foi possível adquirir outras competências que são inerentes ao papel do farmacêutico nas demais direções do INFARMED.

3.2.3. Recursos informáticos

As atualizações realizadas no sistema informático do INFARMED no último mês de estágio, trouxeram problemas frequentes de acesso à rede e às plataformas essenciais para o normal desempenho das atividades diárias da UMM. Tendo em conta a necessidade extrema da utilização dos sistemas informáticos para a realização do trabalho na UMM, estas limitações foram um claro ponto fraco no meu estágio, visto que muitas vezes impedia a realização das atividades propostas. Além disso, penso que para a estrutura do INFARMED, este tipo de problemas são também um problema, que deve ser rapidamente resolver, uma vez que desencadeia graves adversidades, afetando em grande escala a execução das tarefas diárias necessárias.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Desenvolvimento de competências informáticas

O estágio na DAM/UMM permitiu-me trabalhar mais frequentemente com o *Microsoft Office*, nomeadamente, o *Microsoft Word* e *Microsoft Excel*, onde pude aprender e desenvolver novas capacidades de utilização, dada a complexidade de algumas das funções utilizadas em cada um destes *softwares* durante o estágio. A utilização do *Outlook*, como *e-mail* de eleição do INFARMED, permitiu também desenvolver novas aptidões, nomeadamente, no que diz respeito à criação de compromissos conjuntos com outros gestores de processos, de forma a partilhar tarefas importantes que não poderiam ser finalizadas por mim, devido à conclusão do estágio no decorrer dos procedimentos.

3.3.2. Inglês técnico

Atualmente, o conhecimento da língua inglesa torna-se imprescindível na atividade profissional farmacêutica. Estagiar na DAM permitiu-me consolidar e adquirir novos conhecimentos técnico-científicos de inglês, através do contacto direto com os requerentes de AIM feito, maioritariamente, nesta língua, e da revisão dos textos da informação do medicamento (resumo das características do medicamento, folheto informativo e rotulagem), que me permitiram estar em contacto diário com a língua inglesa e aperfeiçoar os meus conhecimentos neste idioma, constituindo uma vantagem pessoal.

3.4. Ameaças

3.4.1. Recursos humanos

A falta de recursos humanos na DAM foi notória durante o período de estágio, o que levou à acumulação de trabalho e a respostas fora do calendário estabelecido como objetivo. Esta falta de profissionais inviabilizou a análise dos processos submetidos ao INFARMED dentro do tempo razoável, havendo frequentemente tempos de espera de 2/3 anos até que estes processos sejam finalizados. Em certos casos, este longo tempo de espera constitui um obstáculo ao seguimento normal do processo, porque podem existir documentos de referência atualizados, que à data da submissão não existiam, o que obriga a mais trabalho, quer por parte do gestor do processo, quer por parte do titular de AIM. Desta forma, a falta de recursos humanos, constituiu uma ameaça não só para o meu estágio, mas também para o posicionamento do INFARMED como entidade reguladora, podendo transparecer falta de competência dos profissionais da DAM.

Apesar da notória falta de recursos humanos, todos os colaboradores se demonstraram disponíveis para esclarecer dúvidas e auxiliar na realização das tarefas propostas.

Conclusão

A oportunidade oferecida pela Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, de estagiar numa área da atividade farmacêutica, que não a tradicional Farmácia Comunitária, foi uma mais-valia para a minha formação enquanto futura profissional de saúde. A vontade precoce de realizar um estágio na área da indústria farmacêutica, onde se incluía as Agências Regulamentares, associada ao gosto desenvolvido pela área dos assuntos regulamentares no decorrer do curso, fez-me optar por realizar o meu estágio nesta prestigiada instituição pública, que é o INFARMED.

Terminado o estágio, posso afirmar que foram vários os fatores que contribuíram para a minha aprendizagem e crescimento, quer a nível pessoal quer profissional. Foi, sem dúvida, uma experiência extremamente enriquecedora e que despertou ainda mais o gosto pela área dos assuntos regulamentares. A possibilidade de trabalhar com uma equipa empenhada, altruísta, dedicada e com brio profissional contribuiu também, de forma bastante positiva, para o meu estágio, uma vez que me fizeram sentir à vontade para colocar qualquer tipo de dúvida e expor as minhas dificuldades de forma a melhorar as minhas aptidões e capacidades profissionais.

Apesar de alguns aspetos negativos terem sido sentidos durante o estágio, a minha experiência foi muito gratificante e permitiu-me ultrapassar alguns obstáculos de forma autónoma contribuindo, assim, para a minha capacidade de resiliência e espírito crítico. Além disso, fiquei a compreender melhor o papel do farmacêutico na área dos assuntos regulamentares e a sua importante contribuição para a cadeia do medicamento. Considero que esta experiência me permitiu adquirir conhecimentos e competências técnicas fundamentais, que serão muito úteis na minha vida profissional, tornando-me agora mais apta e capacitada a ingressar no mercado de trabalho.

Referências Bibliográficas

1. INFARMED, I.P. - **Cronologia**. [Acedido a 28 de junho de 2022]. Disponível na Internet: [https://www.infarmed.pt/web/infarmed //cronologia](https://www.infarmed.pt/web/infarmed//cronologia)
2. INFARMED, I.P. - **Apresentação**. [Acedido a 28 de junho de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed /apresentacao>
3. INFARMED, I.P. - **Estrutura e organização**. [Acedido a 28 de junho de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.infarmed.pt/web/ infarmed/institucional/estrutura-e-organizacao>
4. INFARMED, I.P. - **Direção de Avaliação de Medicamentos (DAM)**. [Acedido a 29 de junho de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/ institucional/estrutura-e-organizacao/dam>

Parte III

Monografia

“O alelo épsilon 4 da *APOE* como fator de risco genético preponderante no desenvolvimento da forma esporádica da doença de Alzheimer”

Lista de Abreviaturas

ABCA1 (*ATP-binding cassette transporter A1*) – Transportador de cassete de ligação de ATP
A1

ABCG1 (*ATP-binding cassette transporter G1*) – Transportador de cassete de ligação de ATP
G1

sAPP α – Fragmento solúvel da proteína precursora amiloide gerado pela α -secretase

sAPP β – Fragmento solúvel da proteína precursora amiloide gerado pela β -secretase

A β – Peptídeo Beta-amiloide

AICD – Domínio Intracelular da Proteína Precursora Amiloide

APOE (2,3,4) – Apolipoproteína E (2,3,4)

APOE ϵ (2,3,4) – Alelo épsilon (2,3,4) da APOE

APP – Proteína Precursora Amiloide

ASOs – Oligonucleótidos antisense

BACE 1 (*β -site APP cleaving enzyme 1*) – Enzima responsável pela clivagem da APP no local β

BHE – Barreira hematoencefálica

DA – Doença de Alzheimer

EOAD (*Early-onset Alzheimer's disease*) – Doença de Alzheimer de início precoce

GWAS (*Genome-wide association study*) – Estudo de associação de todo o genoma

HAE-4 – Anticorpo anti-APOE4 humana

HDL (*High density lipoprotein*) – Lipoproteína de alta densidade

HSPG (*Heparin sulfate proteoglycan*) – Proteoglicanos de sulfato de heparina

IDE – Enzima responsável pela degradação da insulina

iPSC – Células estaminais pluripotentes induzidas

LOAD (*Late-onset Alzheimer's disease*) – Doença de Alzheimer de início tardio

LDL (*Low density lipoprotein*) – Lipoproteína de baixa densidade

LRPI (*Low density lipoprotein receptor-related protein I*) – Proteína I relacionada a recetor de lipoproteína de baixa densidade

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

NFTs (*Neurofibrillary tangles*) – Emaranhados neurofibrilares

OMS – Organização Mundial de Saúde

PP2A – Proteína fosfatase 2A

PSENI – Presenilina 1

PSEN2 – Presenilina 2

SNC – Sistema Nervoso Central

VLDL (*Very low density lipoprotein*) – Lipoproteína de muito baixa densidade

RESUMO

A doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa multifatorial com um fundo genético bastante complexo, associado a vários mecanismos envolvidos na patogênese da doença. A DA é a forma mais comum de demência e pode apresentar-se sob a forma familiar ou sob a forma esporádica, sendo esta última a mais prevalente da doença, com diversos fatores de risco associados. Entre os vários fatores de risco destaca-se a importância do alelo épsilon 4 da apolipoproteína E (*APOE*ε4), o fator de risco genético mais relevante para a forma esporádica da DA, expresso em mais de metade dos doentes. A *APOE* pode ser encontrada em três isoformas distintas – *APOE*2, *APOE*3 e *APOE*4 – sendo a *APOE*4 a que apresenta um maior impacto nos mecanismos fisiopatológicos da DA. A sua intervenção é mais evidente na patologia amiloide, no que diz respeito ao aumento da agregação e deposição de Aβ, e à diminuição da depuração deste peptídeo, contribuindo, assim, para o aumento da formação das placas amiloides, que constituem um dos marcadores patológicos da DA. Além das placas amiloides, também a proteína tau hiperfosforilada é característica da doença e a sua patologia pode ser exacerbada pela presença do *APOE*ε4. Visto que a *APOE*4 contribui para várias vias patológicas da DA, direcionar a terapêutica para esta proteína parece ser uma estratégia promissora para o desenvolvimento de novas terapêuticas que permitam retardar a progressão da doença.

PALAVRAS-CHAVE: Doença de Alzheimer, demência, fator de risco, *APOE*4, amiloide, tau.

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is a multifactorial neurodegenerative disease with a very complex genetic background, responsible for several mechanisms involved in the pathogenesis of the disease. AD is the most common form of dementia and may occur in the familiar or sporadic form, the latter being the most prevalent. Among the various risk factors, the importance of the apolipoprotein E epsilon 4 allele (*APOE* ϵ 4), the most relevant genetic risk factor for the sporadic form of AD, expressed in more than half of patients, stands out. *APOE* can be found in three distinct isoforms – *APOE*2, *APOE*3 and *APOE*4 – and *APOE*4 has the greatest impact on the pathophysiological mechanisms of AD. Its contribution is more evident in the amyloid pathology, since it increases the aggregation and deposition of A β , and decreases the clearance of this peptide, thus contributing to the formation of amyloid plaques, which constitute one of the pathological markers of AD. In addition to amyloid plaques, hyperphosphorylated tau protein is also characteristic of the disease and its pathology may be exacerbated by the presence of *APOE* ϵ 4. Since *APOE* contributes to several pathological pathways of AD, directing a therapy to this protein seems to be a promising strategy for the development of disease-modifying therapies.

KEYWORDS: Alzheimer's disease, dementia, risk factor, *APOE*4, amyloid, tau.

I. Introdução

A longo das últimas décadas, a melhoria contínua das condições de vida nos países desenvolvidos favoreceu o aumento da esperança média de vida, o que se reflete na elevada população idosa que existe atualmente, a nível mundial. Sendo a idade o fator de risco mais preponderante no desenvolvimento da doença de Alzheimer (DA), o aumento da população idosa proporciona um incremento de casos da doença, que constitui a forma mais comum de demência nos idosos, prevendo-se que os números tripliquem até 2050.^{1,2}

De acordo com os dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) de 2021, a demência constitui a sétima principal causa de morte entre os idosos em todo o mundo. Além disso, consequências psíquicas, físicas, sociais e económicas são notórias nas pessoas que sofrem desta patologia, bem como nos cuidadores, familiares e amigos. É importante referir a necessidade extrema de terapêuticas eficazes na prevenção ou atraso da progressão da doença, visto que, atualmente, todas as terapêuticas existentes surtem resultados limitados.^{1,3}

Face aos factos expostos, a OMS reconhece a demência como uma prioridade global de saúde pública e assumiu, em 2017, um “*Plano de ação global sobre a resposta de saúde pública à demência*”, que tem como principal objetivo melhorar a qualidade de vida dos doentes com demência, dos seus cuidadores e familiares, e, simultaneamente, reduzir o seu impacto na sociedade em geral, até 2025. Este plano tem ainda como propósito a inovação e o desenvolvimento de novas terapêuticas e medidas de diagnóstico que permitam responder às necessidades destes doentes.¹

Apesar de já serem conhecidas terapêuticas com foco na DA e existirem novas terapêuticas a serem investigadas em vários estágios de ensaios clínicos, é crucial compreender os mecanismos fisiopatológicos da doença, que nos permitam atuar de forma estratégica e descobrir um tratamento que culmine na cura da DA.¹ Das estratégias terapêuticas atualmente aprovadas nenhuma delas tem como alvo terapêutico a apolipoproteína E, que é objeto de estudo neste trabalho. Contudo vários ensaios clínicos estão a ser desenvolvidos nesse sentido.

Esta monografia tem como objetivo elucidar a influência do alelo épsilon 4 da apolipoproteína E (APOE ϵ 4) como fator de risco para a forma esporádica da doença de Alzheimer, bem como os mecanismos de ação da apolipoproteína E4 (APOE4), que contribuem para a patogénese da doença, e apresentar possíveis estratégias terapêuticas que visam este alvo molecular.

2. Demência

Compreender o conceito de demência é fundamental antes de falar sobre doença de Alzheimer. O termo demência não surge como uma doença propriamente dita, mas sim como uma síndrome, geralmente de natureza crônica ou progressiva, que descreve um padrão intra-individual de deterioração da função cognitiva, com défices em pelo menos dois domínios neuropsiquiátricos ou cognitivos.^{1,4} As capacidades de memória, orientação, compreensão e aprendizagem são afetadas e são, muitas vezes, precedidas por alterações de comportamento e de humor e incapacidade no controlo das emoções. Estes défices prejudicam a independência do indivíduo e dificultam a realização das suas atividades diárias. Contudo, a consciência não é afetada.^{1,5} Estas alterações advêm de interações entre vias moleculares específicas que afetam as funções celulares, conduzem à perda de conexões sinápticas e microangiopatia cerebral e culminam na morte das células cerebrais, resultando em demência.⁴

A demência pode ser causada por várias patologias neurodegenerativas ou cerebrovasculares, particularmente em pessoas idosas, visto que o envelhecimento constitui o fator de risco mais robusto para a demência.^{4,5} Existem diversas formas de demência identificadas, todavia as de maior relevância são a demência associada à doença de Alzheimer, a demência vascular, a demência de corpos de Lewy e a demência frontotemporal. A DA constitui a forma mais comum de demência nos idosos, contribuindo para cerca de 60% a 70% dos casos.¹ De forma a distinguir a demência de início precoce da demência de início tardio tem-se como idade limite os 65 anos. Aproximadamente 95% dos casos de DA correspondem à doença de início tardio (*late onset*).⁴

A forma como cada pessoa é afetada está intimamente relacionada com as causas subjacentes à demência, com outras condições de saúde do indivíduo e com a sua função cognitiva antes de desenvolver demência.¹

3. Doença de Alzheimer

A Doença de Alzheimer é uma doença neurodegenerativa progressiva e multifatorial, que se apresenta como a principal causa de demência em idosos. Caracteriza-se pela presença de placas extracelulares constituídas por beta-amiloide ($A\beta$) e emaranhados neurofibrilares intraneuronais contendo a proteína tau.^{5,6} Simultaneamente, há perda de sinapses e neurónios e neuroinflamação, o que resulta em défices cognitivos e, eventualmente, demência.^{4,6} Atendendo a que vários distúrbios cerebrais podem levar à deterioração cognitiva observada na DA, o diagnóstico desta patologia requer uma combinação entre deterioração cognitiva

específica e alterações neuropatológicas.⁷ A DA afeta maioritariamente pessoas com idade superior a 65 anos e a sua incidência aumenta exponencialmente com a idade.⁸

3.1. Enquadramento Histórico

Alois Alzheimer (1864-1915), psiquiatra e neuropatologista alemão, destacou-se na área da ciência pela sua importante contribuição na descoberta de características clínicas e patológicas associadas a uma doença cerebral, até então, desconhecida. Em 1901, conheceu Auguste Deter, uma mulher de 51 anos, que havia desenvolvido sintomas clínicos precoces e mudanças de personalidade, que não se enquadravam em nenhuma condição patológica bem estabelecida. A. Deter apresentava, uma progressiva e sucessiva perda de memória, desorientação, alucinações e delírios.^{9,10} Após a morte da sua paciente, em 1906, Alois Alzheimer realizou uma análise histológica ao seu cérebro e verificou alterações microscópicas no córtex, que descreveu como a presença de agregados proteicos conhecidos atualmente como placas amiloides (depósitos de proteína β -amiloide) e emaranhados neurofibrilares intraneuronais (agregados de filamentos de proteína tau hiperfosforilada), respetivamente. Alois Alzheimer concluiu tratar-se de uma “doença séria característica do córtex cerebral”, que mais tarde viria a ser denominada por DA, em homenagem ao neuropatologista que se apresentou como pioneiro na sua descoberta.⁹

3.2. Epidemiologia

De acordo com a OMS, atualmente, mais de 55 milhões de pessoas, acima dos 65 anos, são afetadas pela demência, e estima-se que este número possa aumentar para os 139 milhões em 2050, a nível mundial, sendo a maioria dos casos devidos à DA.¹

Estudos epidemiológicos sobre a DA são escassos devido à complexidade do diagnóstico e a comorbilidades associadas. Contudo, ao longo dos últimos anos, grandes avanços permitiram estimar a prevalência e incidência da doença. Com o aumento da população geriátrica prevê-se que a prevalência e incidência da DA também aumente, visto que esta é fortemente dependente da idade.⁸ Correspondendo a prevalência de uma doença ao número de casos existentes numa população, num determinado ponto no tempo, estima-se que esta se encontre entre 10% e 30% para a DA. Relativamente à incidência, associada ao número de novos casos numa população, num determinado intervalo de tempo, esta varia entre 1% e 3%.¹¹

Além disso, estudos recentes mostraram que as mulheres são mais propensas à DA do que os homens, na mesma faixa etária, e que, após o diagnóstico da doença, o sexo feminino

desenvolve-a mais rapidamente e sofre uma maior deterioração cognitiva relativamente ao sexo masculino, no mesmo estágio da doença.¹²

3.3. *Continuum* da doença de Alzheimer: fases da doença e manifestações clínicas

A doença de Alzheimer pode ser considerada como um *continuum*, em que os doentes progridem da capacidade cognitiva normal para o comprometimento cognitivo leve (MCI) causado pela DA e, posteriormente, para demência devido à DA. Este *continuum* divide-se em 3 fases principais, com duração variável.^{13,14}

Na fase pré-clínica, o indivíduo não apresenta sintomas significativos, como a falta de memória, contudo já existem pequenas alterações cerebrais detetadas apenas pela presença de biomarcadores. Desta forma, o indivíduo apresenta-se como assintomático, e segue-se uma fase prodrómica, conhecida como MCI, que consiste na apresentação mais comum de um indivíduo com DA.^{13,15} Nesta fase, desenvolvem-se problemas de memória a curto prazo, perceptíveis tanto para o indivíduo como para familiares e amigos. Além disso, há uma dificuldade acrescida em reter informação recente e formar novas memórias episódicas, não estando as capacidades funcionais prejudicadas.⁴ Entre os indivíduos que têm MCI cerca de um terço (32%) desenvolve demência num período de 5 anos.¹³

Nos casos de MCI que evoluem para demência, os sintomas vão evoluindo para novos sintomas mais preocupantes, conduzindo a doença a um estado moderado e, posteriormente, a um estado severo, que assinalam a fase de demência devido à DA. À medida que a doença progride as capacidades cognitivas vão diminuindo cada vez mais até que os défices cognitivos começam a interferir nas atividades da vida diária, como tomar banho ou vestir-se. O indivíduo apresenta ainda dificuldades em tomar decisões, falta de orientação e diminuição da capacidade de raciocínio, e mudanças de comportamento e de humor, como apatia e agressividade.^{4,15} No estado mais severo da doença o indivíduo fica totalmente dependente dos seus cuidadores, 24 horas por dia, já que, muitas das vezes, estão acamados, com incontinência urinária e incapacitados de mobilidade e deglutição, com dificuldades de linguagem bastante acentuadas, alucinações e convulsões.^{13,15} A esperança média de vida para os doentes que desenvolvem MCI é de aproximadamente 9 anos após o diagnóstico.¹⁵

É importante salientar que as alterações patológicas da DA se instalam décadas antes do aparecimento dos primeiros sintomas e que nem todos os indivíduos com evidências de alterações cerebrais relacionadas com a DA desenvolvem sintomas de MCI ou demência.^{3,13,16}

3.4. Formas da doença e Fatores de risco

A doença de Alzheimer representa um dos grandes desafios do século XXI devido à sua etiologia de elevada complexidade. Atualmente, cerca de 70% do risco de desenvolver DA pode ser atribuído a fatores genéticos.¹⁷

A DA de início precoce (EOAD) desenvolve-se mais cedo do que a forma esporádica, geralmente entre os 30 e os 50 anos de idade, constituindo cerca de 5% de todos os casos de DA. Aproximadamente 1% dos casos de doença corresponde à forma familiar da DA, que ocorre essencialmente devido a raras mutações autossómicas dominantes em 3 genes principais – os genes que codificam a proteína precursora amiloide (APP), a presenilina 1 (PSEN1) e a presenilina 2 (PSEN2).^{3,15} Estas mutações contribuem para o aumento da produção de A β e/ou desregulação da razão A β_{42} /A β_{40} , o que provoca a acumulação, particularmente, de A β_{42} no tecido cerebral, de forma precoce.¹⁷ O facto do gene que codifica a APP se encontrar no cromossoma 21, inclui a Síndrome de Down (SD) nos fatores de risco para o desenvolvimento precoce da DA. Uma vez que existe uma cópia extra do cromossoma 21, as pessoas com SD são portadoras de mais um gene APP e, por isso, estão mais suscetíveis ao desenvolvimento da EOAD, corroborando a hipótese de uma produção excessiva de A β .^{18,19,20}

A forma esporádica da doença, também designada por DA de início tardio (LOAD), é a forma mais prevalente e afeta pessoas com idade superior a 65 anos. Embora o principal fator de risco para DA seja o próprio envelhecimento, existem outros fatores importantes.^{5,8} O fator de risco genético mais relevante para a LOAD é o alelo épsilon 4 da apolipoproteína E (APOE ϵ 4).³ Ainda que vários estudos de associação de todo o genoma (GWAS) tenham identificado alguns genes de suscetibilidade como fortes locus genéticos de risco para a LOAD, como acontece com o gene que codifica o recetor relacionado à sortilina 1 (SORL1), o gene que codifica o transportador de cassete de ligação de ATP A7 (ABCA7) e o gene que codifica o recetor de ativação expresso nas células mieloides 2 (TREM2), o risco que cada um deles aporta é menor do que o risco inerente ao APOE ϵ 4.^{5,18}

Além dos fatores de risco genéticos, existem ainda fatores de risco modificáveis relacionados, principalmente, com doenças pré-existentes e hábitos de vida pouco saudáveis. Destes fazem parte a diabetes *mellitus* tipo 2, a obesidade, a hipertensão, a dislipidemia, doenças cardiovasculares como o acidente vascular cerebral, a depressão e distúrbios do sono, bem como inatividade física e mental, hábitos de tabagismo, dietas pobres e baixos níveis de educação.^{5,17,21} Por outro lado, o contacto social, a prática regular de exercício físico, atividades mentalmente estimulantes e níveis de educação mais altos, mostraram diminuir o risco de

demência e declínio cognitivo e, portanto, apresentam-se como fatores benéficos contra o aparecimento e progressão da DA.^{16,21}

4. Mecanismos Fisiopatológicos

Apesar da extensa investigação científica em torno da doença de Alzheimer, a sua fisiopatologia não é ainda totalmente compreendida e mais estudos são necessários para que se chegue a um consenso sobre os mecanismos moleculares subjacentes à doença.⁵

São principalmente duas as proteínas envolvidas na patogénese da DA. Estas proteínas depositam-se de forma anormal no tecido cerebral, quer no espaço extracelular, quer no espaço intracelular. No espaço extracelular ocorre a deposição do peptídeo A β , que dá origem às placas amiloides. No espaço intracelular neuronal, ocorre a deposição da proteína tau hiperfosforilada, que origina os emaranhados neurofibrilares (NFTs).^{5,22} Acredita-se que a deposição da proteína tau seja um processo que ocorre posteriormente à formação da placa amiloide, devido à concentração de A β depositado nos neurónios das regiões cerebrais afetadas.^{15,22} A acumulação e deposição de A β e da proteína tau antecede a perda de conexões sinápticas sendo, eventualmente, responsáveis pela perda de função e morte das células nervosas. Desta forma, o peptídeo A β e a proteína tau podem ser vistos como a “impressão digital” da DA.^{22,23} Contudo, uma outra proteína relevante na patogénese da DA é a APOE, que tem mostrado um papel importante no desenvolvimento da forma esporádica da doença afetando quer a patologia amiloide quer a tauopatia que se observa na DA.^{15,24}

4.1. Patologia Amiloide

A patologia amiloide caracteriza-se pela acumulação de espécies neurotóxicas de peptídeo A β no tecido cerebral, resultantes do desequilíbrio entre a sua produção e depuração, o que induz a formação das placas amiloides, também designadas placas neuríticas ou placas senis.^{15,22} Em 1992, Hardy e Higgins propuseram a hipótese da cascata amiloide, que pressupõe que a deposição de A β conduz à deposição da proteína tau e, conseqüentemente, à disfunção sináptica, neuroinflamação por ativação da microglia, e perda neuronal, culminando em declínio cognitivo. Desta forma, precedendo todos os mecanismos fisiopatológicos característicos da doença, a hipótese amiloide assume-se como a etapa primária na patogénese da DA.^{3,15,23}

O peptídeo A β provém da APP, obtido por clivagem sequencial via β - e γ -secretases. Podem distinguir-se duas vias pelas quais a clivagem de APP pode acontecer – a via não amiloidogénica, mediada por enzimas com atividade α -secretase, e a via amiloidogénica, mediada pela β -secretase (Figura 1).⁵ A APP encontra-se naturalmente nas células e migra ao longo dos axónios até aos terminais pré-sinápticos, onde permanece em níveis mais elevados. Por este motivo, quando a via amiloidogénica se sobrepõe à via não amiloidogénica pode ocorrer a deposição de A β nas sinapses, uma vez que a APP é endocitada e clivada pela β -secretase dando origem ao peptídeo A β que pode ser posteriormente libertado para o meio extracelular.²⁵ As funções fisiológicas da APP são ainda desconhecidas, contudo, estudos recentes sugerem que tem um papel crucial na sobrevivência neuronal, nomeadamente, a nível da plasticidade neuronal e formação de sinapses.^{22,26} A APP é uma proteína transmembranar do tipo I e é a única da sua família que possui o domínio A β . São principalmente 3 as isoformas mais comuns desta proteína – APP₆₉₅, APP₇₅₁ e APP₇₇₀ – com 695, 751 e 770 aminoácidos, respetivamente, e das quais a APP₆₉₅ é a mais predominante a nível do sistema nervoso central (SNC).^{26,27}

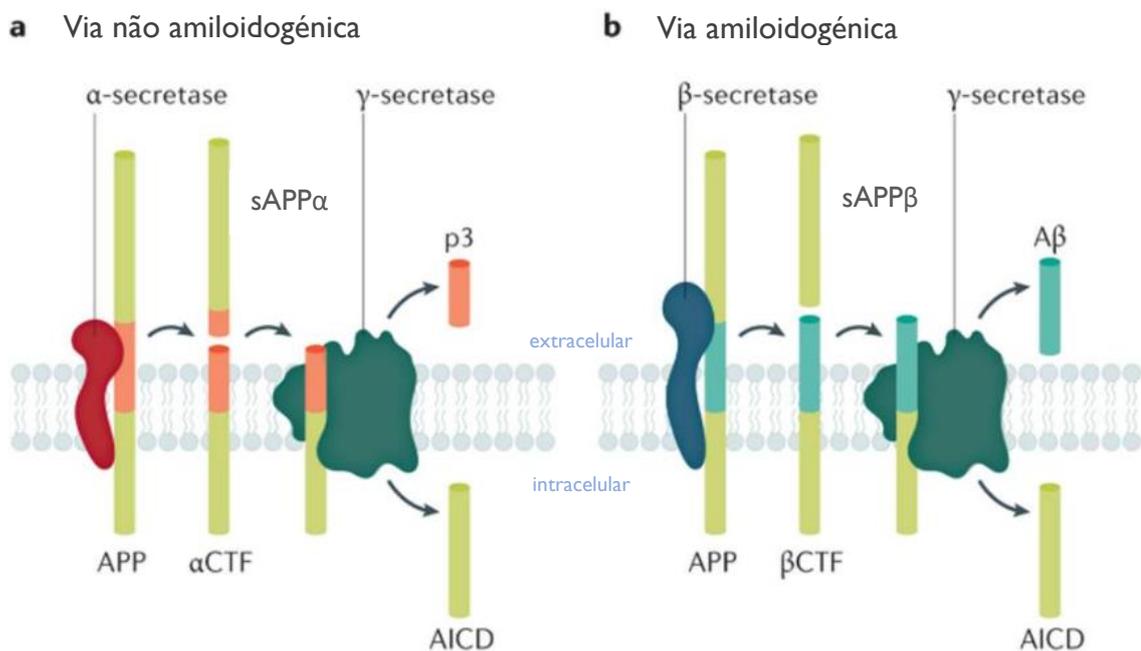


Figura 1 - Vias de clivagem da proteína precursora amiloide (APP). Via não amiloidogénica (a) e via amiloidogénica (b). Adaptado de Knopman, et al., 2021.

A via não amiloidogénica (Figura 1a) tem início com a ação da α -secretase, que vai clivar a APP dentro do domínio A β , mais precisamente entre os aminoácidos 16 e 17, prevenindo, assim, a formação do peptídeo A β , que tem tendência a agregar. A atividade da α -secretase conduz à formação de um fragmento solúvel da proteína precursora amiloide (sAPP α), que é libertado no meio extracelular, e um fragmento C-terminal constituído por 83 aminoácidos

(α CTF), que fica retido na membrana.^{26,27} O fragmento sAPP α não é submetido a mais nenhuma etapa de metabolização por secretases e é considerado neuroprotetor, uma vez que a sua presença no cérebro está associada à sinalização sináptica e plasticidade neuronal normais.^{22,26} Por sua vez, o fragmento α CTF é processado pela γ -secretase originando um fragmento de domínio intracelular amiloide (AICD), libertado no espaço intracelular, e um pequeno fragmento p3 solúvel, libertado para o espaço extracelular.²² Este último fragmento, A β ₁₇₋₄₀ ou A β ₁₇₋₄₂, é apenas uma parte do peptídeo A β e, por essa razão, não sendo o peptídeo inteiro, p3 não é considerado amiloidogénico.²⁶

Por outro lado, a via amiloidogénica (Figura 1b) inicia-se com a ação da β -secretase, também designada BACE I, a enzima responsável pela clivagem de APP no local β .²³ Esta clivagem dá origem a um fragmento solúvel da proteína precursora amiloide (sAPP β), libertado no espaço extracelular, e a um fragmento C-terminal maior do que o formado na via não amiloidogénica, constituído por 99 aminoácidos (β CTF), que fica retido na membrana e é, posteriormente, submetido à ação da γ -secretase e da qual resultam os peptídeos A β .^{23,27} Assim, a ação da γ -secretase origina o fragmento de domínio intracelular amiloide (AICD) e o peptídeo A β completo, normalmente constituído por 40 ou 42 aminoácidos (A β ₄₀ ou A β ₄₂, respetivamente), dependendo do local de clivagem da γ -secretase.^{25,26} O peptídeo A β ₄₀ é a espécie predominante.²⁸ No entanto, na DA pode haver formação acrescida de A β ₄₂, que tem maior potencial de agregação do que o peptídeo Abeta 40 e por isso é considerado mais neurotóxico.²³ As mudanças no padrão de clivagem da APP, responsáveis pela formação aumentada de A β ₄₂, podem dever-se a mutações nos genes da APP, PSEN1 e PSEN2, responsáveis pela formação aumentada de A β ₄₂ na forma familiar da DA. No entanto mutações no gene da APOE4 podem interferir com a normal eliminação do peptídeo A β ₄₂, na forma esporádica da DA.^{15,17,23}

Após libertação, os peptídeos A β têm tendência a agregar-se em oligómeros que, posteriormente, se desenvolvem em protofibrilas e depois em fibrilas, que assumem uma conformação de folha- β . Finalmente, estas fibrilas vão se acumulando e formando as placas amiloides.^{3,27} Os oligómeros A β neurotóxicos têm sido vistos como a principal causa para a patologia da DA, em vez das placas amiloides, uma vez que estudos *in vivo* demonstraram uma melhor correlação entre o declínio cognitivo e os oligómeros A β , em comparação com a quantidade de placa.^{20,27} Por outro lado, a deposição das placas amiloides mostrou interferir com a homeostase cerebral, culminando na perda de neurónios funcionais, induzindo

alterações na sinalização celular que levam à hiperfosforilação da proteína tau, o que desencadeia um outro mecanismo importante na patogênese da DA.^{17,25}

4.2. Patologia da Tau

A deposição da proteína tau conduz à formação dos emaranhados neurofibrilares (NFTs), que, em conjunto com as placas amiloides, constituem marcadores patológicos específicos da DA.²⁹ A patologia da tau começa por se instalar na região entorrinal e hipocampo antes de se propagar para outras regiões do cérebro. Ao contrário do que acontece na patologia amiloide, a progressão da patologia da tau converge com a progressão do comprometimento cognitivo e evolução dos sintomas da DA.^{3,30}

A tau é uma proteína que pertence à família das proteínas associadas a microtúbulos e exerce funções fisiológicas importantes, através da ligação à tubulina, como a promoção da polimerização dos microtúbulos e a sua estabilização, e, conseqüentemente, a regulação do transporte axonal. É uma proteína intrinsecamente desorganizada, muito flexível e altamente solúvel, localizada essencialmente nos axónios.^{29,30} Codificada por um gene alocado no cromossoma 17, a proteína tau pode ser encontrada, no cérebro humano, sob 6 isoformas distintas, que variam no domínio N-terminal e no domínio de ligação aos microtúbulos. Na DA, predominam as isoformas 3R e 4R, que contêm, respetivamente, 3 e 4 repetições de uma sequência de aminoácidos no domínio de ligação aos microtúbulos.^{3,30}

Diferentes modificações pós-tradução podem alterar a conformação da proteína tau e, conseqüentemente, afetar a sua atividade biológica. Destaca-se a hiperfosforilação, que consiste na fosforilação aumentada dos locais fisiológicos e na fosforilação de resíduos de aminoácidos que, em condições fisiológicas, não são fosforilados. Isto deve-se à atividade desregulada das proteínas cinases e fosfatases, responsáveis pela fosforilação e desfosforilação da proteína tau, respetivamente.³⁰ É importante mencionar o papel da proteína fosfatase 2A (PP2A), responsável por cerca de 70% de toda a atividade fosfatase no cérebro.⁶ O grau de fosforilação da tau na DA reflete a atividade anormal destas enzimas e está diretamente relacionado com a instabilidade dos microtúbulos. A proteína tau anormalmente fosforilada agrega-se, maioritariamente, em filamentos helicoidais emparelhados, presentes nos NFTs insolúveis, que se acumulam sobretudo na região do corpo celular e nas dendrites dos neurónios. A hiperfosforilação da proteína tau vai interferir com a sua capacidade de ligação à tubulina e, conseqüentemente, leva à desorganização dos microtúbulos.^{6,30}

Em conseqüência, o transporte axonal fica afetado e há uma progressiva perda de função sináptica e conseqüente neurodegeneração.^{5,22,30}

5. Influência da APOE4 na DA

5.1. Estrutura e Propriedades Bioquímicas da APOE

A apolipoproteína E (APOE) humana é uma glicoproteína de 34 kDa constituída por 299 aminoácidos, que possui dois domínios estruturais separados por uma região de dobradiça.³¹ Estes dois domínios integram regiões funcionais relevantes para esta apolipoproteína – a região de ligação ao recetor (resíduos 136-150) e a região de ligação a lípidos (resíduos 244-272), incluídas no domínio N-terminal e no domínio C-terminal, respetivamente (Figura 2).^{31,32} O domínio N-terminal caracteriza-se pela sua estrutura de 4 hélices dispostas paralelamente, mas em sentidos opostos. Por sua vez, o domínio C-terminal é composto por α -hélices anfipáticas, ou seja, com características hidrofílicas e hidrofóbicas. A ligação de colesterol e fosfolípidos à região de ligação de lípidos expõe a região de ligação ao recetor, e permite que a APOE se ligue aos recetores presentes na superfície celular.³²

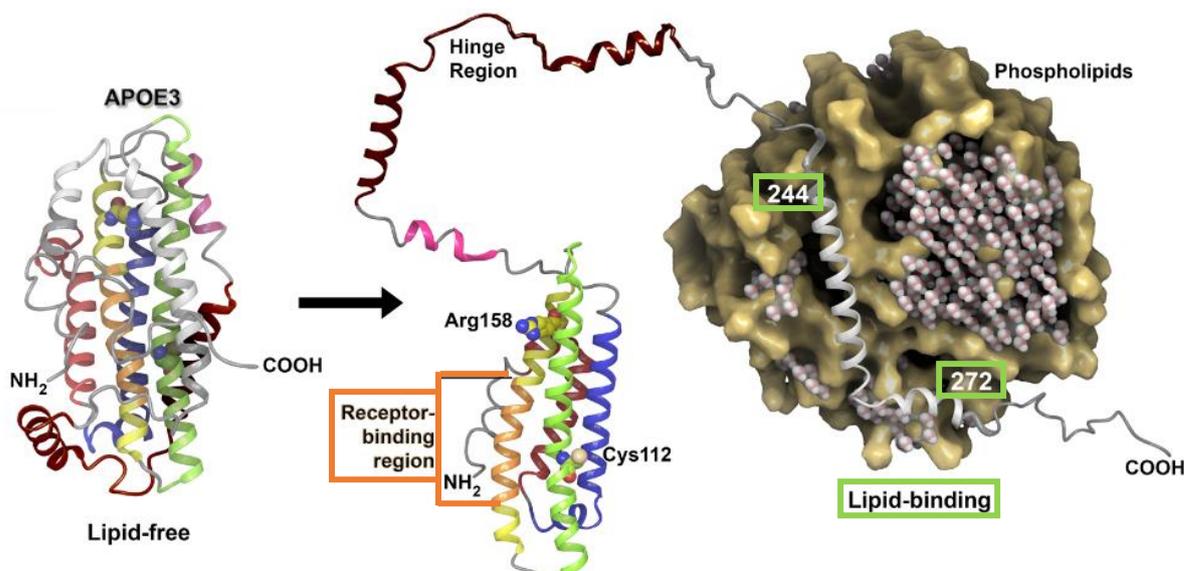


Figura 2 - Estrutura da apolipoproteína E3 (APOE3) livre de lípidos e ligada a lípidos. Adaptado de Yamazaki, Zhao, Caulfield, Liu, & Bu, 2019.

A APOE é principalmente sintetizada pelo fígado, que é responsável pela produção de, aproximadamente, 75% da APOE total, sendo o cérebro o segundo órgão mais comum envolvido na síntese desta apolipoproteína.^{7,31} Em cérebros saudáveis, a APOE é produzida maioritariamente por astrócitos, mas também pode ser expressa na microglia.²⁴ Os próprios neurónios podem sintetizar APOE, nomeadamente, neurónios lesionados ou em stress, como acontece na DA, de forma a conseguir a reparação ou remodelação neuronal, através da redistribuição de colesterol.^{31,33} Ao contrário do que sucede com a APOE produzida no fígado, que se distribui pela circulação sanguínea, a APOE sintetizada no cérebro, não atravessa a barreira hematoencefálica e cinge-se apenas às áreas cerebrais onde é sintetizada e áreas

vizinhas.³¹ A *APOE* assume-se como o único transportador de colesterol no cérebro e desempenha um papel crucial no transporte de colesterol e de vários lípidos entre as células, a nível do SNC, nomeadamente, dos astrócitos para os neurónios.^{34,35} Pode ter efeitos autócrinos, nas células que a sintetizam, e efeitos parácrinos, nas células adjacentes.²⁴ A sua função como transportador de lípidos torna-se essencial ao normal funcionamento neuronal, uma vez que os lípidos e o colesterol, no cérebro, são fundamentais para a formação e manutenção das sinapses. Além disso, os lípidos desempenham funções fundamentais na regulação imunológica, através da sinalização celular e fluidez das membranas.³⁵ A maior parte da *APOE* cerebral contém colesterol e fosfolípidos, transferidos via transportadores de cassete de ligação de ATP A1 e G1 da superfície celular (*ABCA1* e *ABCG1*, respetivamente) para as *APOE* imaturas secretadas pelas células cerebrais, formando, assim, as partículas de lipoproteína.³² Estas lipoproteínas, já maduras, vão ligar-se a recetores presentes na superfície celular, preferencialmente, recetores da família dos recetores de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), que incluem o recetor de LDL (*LDLR*), a proteína 1 relacionada ao recetor de LDL (*LRPI*), o recetor de lipoproteínas de muito baixa densidade (*VLDLR*) e o recetor 2 da *APOE* (*APOER2*), que se apresentam como os principais recetores de *APOE* implicados no metabolismo lipídico do SNC.^{32,356} A *APOE4* mostra preferência por ligação a lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), enquanto a *APOE3* tem maior afinidade de ligação a lipoproteínas de alta densidade (HDL).^{31,35}

O gene da *APOE*, localizado no cromossoma 19, possui três alelos comuns, que codificam três isoformas distintas de *APOE* – *APOE2*, *APOE3* e *APOE4* – que diferem entre si apenas em um ou dois resíduos de aminoácidos, nas posições 112 e 158 (Figura 3).³¹ Estas variações são causadas por polimorfismos genéticos, neste caso em particular, dois polimorfismos de nucleótido único (SNPs) – rs429358 e rs7412.²⁴ O alelo épsilon 2 da *APOE* (*APOE2*) possui um resíduo de Cisteína (Cys) em ambas as posições 112 e 158, o alelo épsilon 3 da *APOE* (*APOE3*) possui também uma Cys na posição 112, mas contém uma Arginina (Arg) na posição 158, e, por sua vez, no *APOE4* verifica-se a presença de duas Arg em ambas as posições 112 e 158.³⁵ A diferente composição em aminoácidos das isoformas de *APOE* altera significativamente a sua estrutura e, conseqüentemente, afeta as suas funções biológicas.³² As variações de aminoácidos na posição 112 afetam a interação entre o domínio que contém a região de ligação ao recetor e o domínio que contém a região de ligação a lípidos e, portanto, as propriedades de ligação da *APOE* a lípidos também são afetadas. Por outro lado, as variações na posição 158 afetam o domínio de ligação da *APOE* aos recetores celulares.³⁵

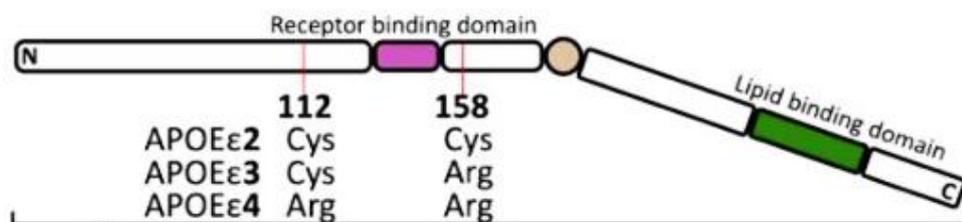


Figura 3 - Estrutura da apolipoproteína E (APOE) e polimorfismos associados. Adaptado de Wolfe, Fitz, Nam, Lefterov, & Koldamova, 2018.

A Arg presente no resíduo 112 (Arg-112) da *APOE4* induz o afastamento da cadeia lateral de Arg no resíduo 61 (Arg-61) da região N-terminal, ficando assim mais próxima da região C-terminal, o que lhe permite interagir, via ligação iónica, com o ácido glutâmico do resíduo 255 (Glu-255), incluído na região de ligação lipídica. Esta interação entre a Arg-61 e o Glu-255 é responsável pela preferência de ligação da *APOE4* a lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e pelos seus efeitos específicos no cérebro.^{31,35} Na *APOE2* e *APOE3*, o facto de existir uma Cys no resíduo 112 (Cys-112) faz com que a Arg-61 fique mais oculta no domínio helicoidal do N-terminal e, por esse motivo, a interação com o domínio C-terminal é menos provável. Estudos estruturais permitem ordenar a probabilidade de interação entre os resíduos de Arg-61 e Glu-255 da proteína, sendo *APOE4* a mais provável e *APOE2* a menos provável (*APOE4*>*APOE3*>*APOE2*).³¹

5.2. O alelo épsilon 4 da APOE como fator de risco

Como referido anteriormente, o *APOEε4* é o primeiro e maior fator de risco genético associado à forma esporádica da DA, descoberto em 1993.²⁴ As variações alélicas da *APOE* encontram-se na população com diferentes frequências relativas, sendo que o *APOEε3* é o mais comum, com uma frequência aproximada de 78% na população. Por sua vez, o *APOEε2* e o *APOEε4* encontram-se na população com frequências mais baixas, cerca de 8% e 14%, respetivamente.^{36,40} Todavia, quando se trata da população com diagnóstico de DA os números são bastante mais elevados para o *APOEε4* – entre 65% e 80% da população com DA possui, pelo menos, um alelo *APOEε4*.³¹ Portadores heterozigóticos do *APOEε4*, ou seja, com apenas 1 alelo *APOEε4*, têm 3 a 4 vezes mais probabilidade de desenvolver LOAD, enquanto os portadores homozigóticos, com 2 alelos *APOEε4*, têm esse risco aumentado em cerca de 12 a 15 vezes.⁵

Além de aumentar o risco de LOAD, o *APOEε4* está associado a um declínio cognitivo precoce, a uma evolução mais rápida da doença e a maior atrofia cerebral.^{35,37} O *APOEε4* antecipa a idade de início da DA entre 2 e 5 anos para portadores heterozigóticos, e entre 5 e 10 anos para portadores homozigóticos, quando comparado com o *APOEε3*. Por sua vez, o

*APOE*ε2 demonstrou uma idade de início mais tardia em relação ao *APOE*ε3, o que reforça a ideia de que *APOE*ε2 possui efeitos protetores contra a DA.^{24,32} A influência do *APOE*ε4 na DA depende não só da idade do indivíduo, mas também da sua raça e gênero. Relativamente à idade, a contribuição do *APOE*ε4 para o risco de DA é maior em indivíduos mais jovens, o que faz com que a DA se inicie mais cedo nestes indivíduos.³⁶ A ancestralidade local da *APOE*, isto é, a variação genética específica da população na região do DNA que codifica a *APOE*, explica as diferenças inter-raciais observadas no risco de DA.²⁴ Afro-americanos portadores do *APOE*ε4 apresentam maior frequência alélica de *APOE*4, mas menor risco de desenvolver DA, quando comparados com os portadores do *APOE*ε4 caucasianos. Por outro lado, portadores asiáticos do *APOE*ε4, nomeadamente indivíduos de descendência japonesa, apresentam menor frequência alélica de *APOE*4, mas um risco de DA superior, comparativamente à população caucasiana.^{24,36} Relativamente ao gênero, o sexo feminino mostra-se mais suscetível aos efeitos da *APOE*4 do que o sexo masculino, o que sugere a intervenção de hormonas específicas relacionadas com o sexo biológico como intermediárias dos efeitos patológicos da *APOE*4.³⁶ Estudos recentes sugerem que, provavelmente, a *APOE*4 é responsável pela heterogeneidade fenotípica observada na DA, visto que os portadores *APOE*ε4 apresentam maior deposição de tau e atrofia cerebral no hipocampo e córtex entorrinal e, conseqüentemente, maior comprometimento de memória, enquanto os não portadores apresentam maior deposição de tau e atrofia cerebral nos lobos frontal e parietal, o que induz maior comprometimento a nível da função executiva, habilidades visuoespaciais e linguagem (Figura 4).³⁶ Cérebros analisados *post-mortem* de portadores homozigóticos apresentam maior deposição de tau do que os cérebros de não portadores ou portadores heterozigóticos. Estes achados encontram-se no cérebro apenas quando a patologia amiloide está presente, o que sugere que a ação da *APOE*4 na patologia da tau tem maior importância quando há, simultaneamente, patologia amiloide instalada.³²

Evidências crescentes apoiam o papel da *APOE*4 na patogênese da LOAD, contudo os mecanismos pelos quais a sua ação é mediada são ainda pouco compreendidos.³³ Sabe-se que, dependendo da estrutura, as isoformas da *APOE* modulam, de forma distinta, várias vias de sinalização intracelular, como o transporte lipídico, o metabolismo da glicose, a integridade e plasticidade sináptica e a função cerebrovascular. No que diz respeito à *APOE*4, acredita-se que esta tenha ação direta sobre a patologia amiloide, constituindo o principal mecanismo através do qual a *APOE*4 contribui para a patogênese da doença.³²

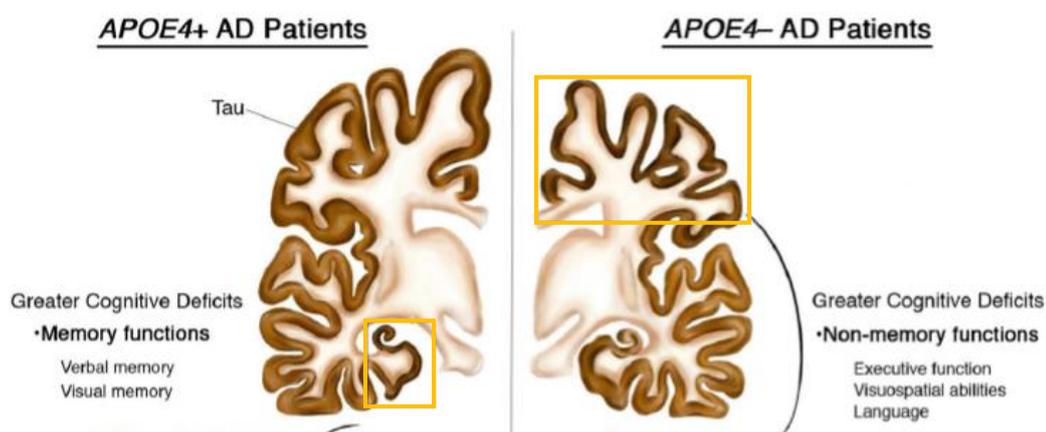


Figura 4 - Heterogeneidade fenotípica induzida pela APOE4 em portadores e não portadores do APOE4. Adaptado de Emrani, Arain, DeMarshall, & Nuriel, 2020.

5.3.1. APOE4 e a Patologia Amiloide

O impacto da APOE sobre a cascata amiloide é dependente da dose e da isoforma expressa pelo indivíduo, sendo a APOE4 a que tem maior impacto na agregação e deposição de A β , por ser mais eficaz na indução destes processos (APOE4>APOE3>APOE2). No que diz respeito à depuração de A β verifica-se uma tendência isoforma-dependente oposta (APOE4<APOE3<APOE2), em que a APOE4 mostra ser menos eficaz no processo de depuração, o que contribui para uma maior acumulação do peptídeo A β no tecido cerebral.^{7,35}

O genótipo APOE mantém uma relação bem estabelecida com o metabolismo do peptídeo A β , apoiada por vários estudos clínicos e neuropatológicos, que demonstraram que cérebros *post-mortem* de doentes com DA, portadores do APOE4, apresentam maior acumulação de A β intraneuronal, maior deposição da placa amiloide e formação aumentada de oligómeros A β tóxicos, quando comparado com não portadores. Por outro lado, o APOE2 demonstrou estar associado à redução da deposição de A β , particularmente em indivíduos não portadores do APOE4.^{32,37} O efeito prejudicial da APOE4 na patologia amiloide parece conseguir superar o efeito protetor da APOE2, uma vez que indivíduos heterozigóticos para o APOE4, ou seja, que transportam um APOE2 (APOE4/ ϵ 2) ou um APOE3 (APOE4/ ϵ 3), demonstram semelhante probabilidade de deposição de A β .³²

Além de A β , o componente maioritário, as placas amiloides extracelulares são também constituídas por APOE que se deposita em menor abundância. A APOE4 aparenta ter um papel ativo na formação das placas amiloides, principalmente, nos estágios iniciais da agregação de A β (*seeding stage*), contribuindo para a compactação das placas e levando ao aumento da patologia amiloide. O mesmo não se verifica quando a APOE3 é expressa, nem quando a APOE4

é expressa apenas após a placa já estar formada (fase de crescimento amiloide).^{24,35} A utilização de oligonucleótidos antisense (ASOs) em modelos animais que expressam *APOE4* mostrou reduzir a deposição da placa amiloide quando utilizados desde o nascimento (antes do início da deposição de $A\beta$), não se verificando o mesmo efeito quando são utilizados apenas após o início da formação da placa. Isto corrobora a teoria de que a *APOE4*, comparativamente à *APOE2* e *APOE3*, tem uma ação mais marcada na *seeding stage*, visto que após a placa amiloide já estar formada a utilização dos ASOs não afeta a sua concentração.³⁸

Relativamente à produção de $A\beta$, estudos com neurónios derivados de células estaminais pluripotentes induzidas (iPSC) mostraram que a *APOE* estimula a transcrição de *APP* e a produção de $A\beta$, sendo a *APOE4* a isoforma que apresenta um efeito mais evidente, fundamentado na observação de que neurónios portadores do *APOE4* apresentam maior secreção de $A\beta$.³⁷ A *APOE* demonstrou ativar uma via de sinalização mediada por proteínas cinases ativadas por mitogénios (MAP cinases), que vão desencadear a fosforilação de cFos, uma subunidade do fator de transcrição AP-1. Após a fosforilação de cFos o AP-1 liga-se ao seu local consenso no promotor do gene da *APP*, e induz a transcrição resultando, posteriormente, num aumento da produção de $A\beta$. A *APOE4* mostrou maior eficácia na ativação desta via de sinalização do que a *APOE3*, o que pode causar um efeito cumulativo ao longo da vida de um indivíduo portador do *APOE4*.³⁹

Visto que o peptídeo $A\beta$ é continuamente produzido no cérebro, é necessário que haja mecanismos eficazes na depuração deste peptídeo, de forma a evitar a sua acumulação e agregação. As principais vias de depuração do peptídeo $A\beta$ incluem a captação mediada por recetores presentes nos astrócitos, microglia e neurónios, e posterior degradação; a degradação proteolítica por ação da neprilisina ou da enzima de degradação da insulina (IDE); e a depuração através da barreira hematoencefálica (BHE).^{32,34} A *APOE* regula a depuração de $A\beta$ de modo isoforma-dependente e o seu grau de lipidação parece ter um papel importante tanto na deposição da placa amiloide como na depuração de $A\beta$. A lipidação da *APOE* é conseguida pelos transportadores de cassete de ligação de ATP, que incluem ABCA1 e ABCG1, e sabe-se que o grau de lipidação da *APOE4* é menor do que o grau de lipidação da *APOE2* e *APOE3*.^{31,40} Relativamente à deposição da placa amiloide, o menor grau de lipidação da *APOE* conduz a um aumento deste processo.³⁵

A captação celular de $A\beta$ e a sua posterior degradação pelos astrócitos e pela microglia constituem uma via de depuração de $A\beta$ fundamental no cérebro. Num estudo realizado com astrócitos derivados de iPSC, a expressão da *APOE4* mostrou prejudicar a ligação e captação

de A β , através de um mecanismo dependente da *APOE* e do recetor LRPI. Este recetor é responsável pela depuração de A β pelos astrócitos, e foi demonstrado que a *APOE* compete com A β pela ligação ao recetor LRPI. Competindo pelo mesmo recetor, a *APOE*, mais especificamente a *APOE4*, devido à sua maior afinidade pelo recetor, impede a ligação de A β e diminui a sua captação e consequente depuração.³² Outros estudos mostraram que a depuração de A β pela microglia é afetada negativamente em portadores do *APOE4*, devido à diminuição da sua capacidade de fagocitar A β , quando comparada com portadores do *APOE3*.³⁴

O peptídeo A β sofre degradação proteolítica pela neprilisina e por enzimas de degradação da insulina (IDE), quer a nível intracelular, quer extracelular.³⁴ Dentro da microglia, a neprilisina promove a degradação de A β na presença de *APOE*, que é capaz de facilitar este processo. Contudo, a *APOE4* mostrou ser menos eficiente na degradação de A β solúvel comparativamente a *APOE3* e *APOE2*. A análise *post-mortem* de cérebros humanos permitiu confirmar que portadores de um único *APOE4* têm uma menor expressão de neprilisina e IDE e, consequentemente, a depuração de A β por esta via fica prejudicada.^{32,34}

Por fim, apresenta-se a ação da BHE na depuração de A β que, em condições fisiológicas, é responsável por manter o equilíbrio interno do cérebro, protegendo-o de substâncias tóxicas presentes na circulação sanguínea. Assim, alterações a nível da BHE podem induzir efeitos prejudiciais no metabolismo de A β , contribuindo para a condição fisiopatológica encontrada em indivíduos com DA.³⁷ A estrutura da BHE permite-lhe ser seletivamente permeável, possibilitando o transporte de A β do cérebro para a circulação sistémica, via recetores LRPI e VLDL de forma dependente da isoforma de *APOE*.^{34,37} Vários estudos recentes mostraram que a *APOE4* diminui a depuração de A β devido à sua preferência de ligação ao recetor VLDL, que apresenta uma taxa de depuração de complexos *APOE4*/A β inferior à apresentada pelo recetor LRPI, que medeia a depuração de complexos *APOE2*/A β e *APOE3*/A β .³⁴

Desta forma, são vários os mecanismos pelos quais a *APOE4* contribui para a patologia amiloide (Tabela I), quer por ganho de funções tóxicas, implicadas no aumento da agregação e deposição de A β , quer por perda de funções fisiológicas, como a diminuição da *clearance* de A β . Pode ainda acontecer uma combinação entre o ganho e a perda de funções que exacerba ainda mais a condição patológica inerente à DA.⁴⁰

Tabela 1 - Mecanismos de ação da APOE4 que contribuem para a patologia amiloide

	Efeitos do APOE4 na patologia amiloide
Formação de Aβ	Estimulação da transcrição de APP
Deposição da placa amiloide	Ação na <i>seeding stage</i> , aumentando a deposição da placa
Depuração de Aβ	Competição com A β pela ligação ao recetor LRP1 Diminuição da capacidade da microglia em fagocitar A β Diminuição da expressão de neprilisina e IDE
BHE	Diminuição da taxa de depuração dos complexos APOE4/ A β pelos recetores VLDL

5.3.2. APOE4 e a Patologia da Tau

Apesar de ter uma ação direta na patologia amiloide e o mesmo não se verificar na patologia da tau, várias evidências recentes mostraram que a APOE4 pode exacerbar a patologia da tau, independentemente da patologia amiloide, e a neurodegeneração associada à tau. Estudos realizados com neurónios derivados de iPSC evidenciaram o papel da APOE4 no aumento da fosforilação da proteína tau e no agravamento da perda de sinapses e neurodegeneração.⁴¹

Como referido anteriormente, a patologia da tau é fortemente influenciada pela ação da PP2A, que contribui para a maioria da atividade fosfatase que regula os níveis de fosforilação da tau. A PP2A quando ativada promove a desfosforilação da proteína tau.⁶ Assim, alterações a nível da atividade desta proteína afetam significativamente o desenvolvimento da patologia da tau. Uma combinação de estudos de imunoprecipitação de cromatina permitiu observar que a APOE se liga a regiões promotoras de diferentes genes, um dos quais o gene PPP2R5E, que codifica a PP2A. Mais concretamente, a APOE limita a transcrição deste gene o que faz com que a proteína fosfatase PP2A seja menos expressa e, conseqüentemente, há menor quantidade desta proteína a exercer atividade fosfatase conduzindo a um aumento substancial da tau hiperfosforilada. A análise *post-mortem* de cérebros com DA permitiu verificar que a atividade da PP2A sofreu uma diminuição mais acentuada na presença de APOE4 comparativamente a APOE3. Por outro lado, a APOE desencadeia a desmetilação da subunidade catalítica PP2A_C da PP2A (modificação pós-tradução) conduzindo à destabilização do complexo enzimático e, por sua vez, à redução da atividade da PP2A. Também neste processo a APOE4 se mostrou mais eficaz do que APOE3 e, desta forma, a expressão da APOE4 consegue explicar o aumento da proteína tau hiperfosforilada em indivíduos com LOAD.⁴²

Modelos animais transgênicos de tau P301S que expressam *APOE4*, *APOE3* e *APOE2* foram utilizados num estudo que comparou a influência das diferentes isoformas de *APOE* na patologia da tau e neurodegeneração associada à tau. Os níveis de proteína tau nestes modelos foram avaliados em dois momentos: antes do início evidente da patologia da tau, aos 3 meses de idade, e após o desenvolvimento da patologia, aos 9 meses. Aos 3 meses observaram-se quantidades de tau mais elevadas em modelos animais que expressam *APOE4* do que naqueles que expressam *APOE3* e *APOE2*. Aos 9 meses os níveis de tau seguiam o mesmo padrão anterior, contudo a proteína encontrava-se numa forma menos solúvel. Nos modelos animais com 9 meses verificaram-se alterações consideráveis na expressão génica relacionada à autofagia, o que sugere que a *APOE4* pode afetar a depuração da tau por autofagia. Além disso, foi observada maior atrofia cerebral e neuroinflamação, principalmente, no hipocampo, córtex entorrinal e amígdala, com um aumento significativo do ventrículo lateral. Por outro lado, a ausência de *APOE* reduziu consideravelmente a atrofia cerebral e a perda neuronal. Estes resultados comprovam a influência da *APOE4* na patologia da tau e na neurodegeneração que dela advém.⁴³

Outros estudos mostraram que portadores homozigóticos do *APOE4* apresentam maior patologia da tau do que os portadores heterozigóticos ou não portadores. Verificou-se ainda que a expressão de *APOE4* nos neurónios conduz a um aumento da hiperfosforilação da proteína tau aumentando a formação de NFTs.³⁴ A *APOE4* é altamente suscetível à degradação proteolítica específica dos neurónios. Como resposta a stress ou lesão neuronal, os neurónios sintetizam *APOE* para redistribuir lípidos para o reparo e remodelação neuronal. Contudo, a *APOE4* é identificada como estruturalmente anormal o que leva à sua clivagem proteolítica, no retículo endoplasmático ou no aparelho de Golgi. Da clivagem da *APOE4* resultam fragmentos tóxicos (12-29 kDa) que escapam da via secretora da célula e passam para o citosol, onde vão interagir com componentes do citoesqueleto, como a tau e as mitocôndrias, estimulando a fosforilação da tau e causando disfunção mitocondrial e neurodegeneração (Figura 5).³¹

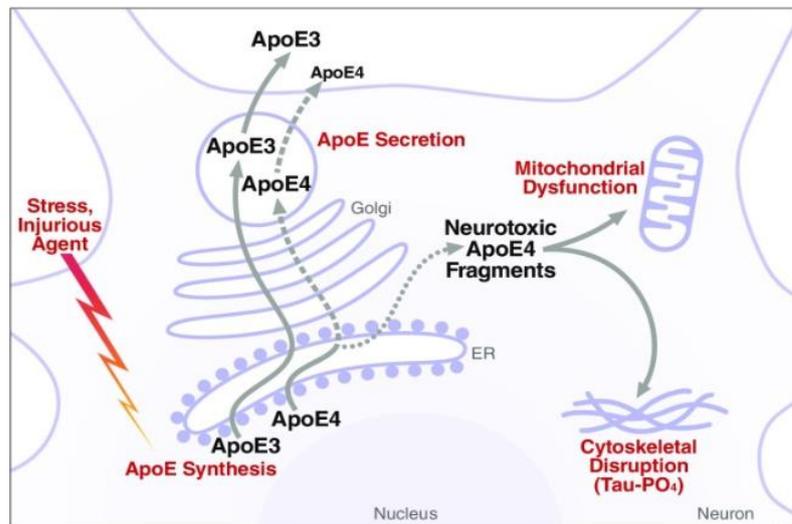


Figura 5 - Neurotoxicidade associada aos fragmentos neurotóxicos gerados a partir da APOE4. Adaptado de Mahley, R., M. (2016).

6. Abordagens terapêuticas direcionadas à APOE

Atualmente a terapêutica para a doença de Alzheimer centra-se no alívio dos sintomas, não havendo ainda um medicamento capaz de retardar ou impedir a progressão da doença. Desta forma, são necessárias terapias com capacidade para modificar o curso da doença.⁴¹ Apesar dos seus mecanismos de ação não serem ainda totalmente compreendidos, a APOE4 mostrou-se um alvo interessante para melhorar o fenótipo associado à DA.²⁴ As abordagens terapêuticas direcionadas à APOE4 têm como principal objetivo neutralizar os seus efeitos e modificar a sua estrutura.⁷

6.1. Imunoterapia anti-APOE – anticorpo anti-APOE4 humana (HAE-4)

Um estudo recente com modelos animais transgênicos, que expressam APOE4 e produzem o peptídeo A β humano, permitiu a descoberta de um anticorpo – o anticorpo anti-APOE4 humana (HAE-4) – envolvido na diminuição da deposição de A β e, conseqüentemente, na redução da placa amiloide. Este anticorpo reconhece especificamente a APOE4 e a APOE3 humanas, e liga-se preferencialmente à APOE não lipídica que se encontra agregada, em detrimento da APOE lipídica presente na circulação. Além disso, após a administração direta no cérebro ou administração periférica, o HAE-4 liga-se à APOE presente nas placas amiloides, sugerindo que a formação das placas mediada pela APOE pode resultar da agregação da APOE. A administração deste anticorpo no início da formação da placa mostrou reduzir a deposição de A β . Contrariamente a outros anticorpos em estudo, o HAE-4 não se liga diretamente aos agregados A β , mas sim à APOE co-depositada nas placas senis. A diminuição dos agregados A β mediado pela ligação do HAE-4 à APOE parece ser dependente do processo de fagocitose induzido pela microglia. O facto do HAE-4 se ligar preferencialmente a APOE não lipídica

contribui para o aumento da sua semivida plasmática, comparativamente com os HAE-2 e HAE-3, que se ligam à APOE lipídica. Assim, um tempo de semivida mais longo faz aumentar a exposição ao HAE-4 o que permite uma maior redução das placas A β .⁴⁴

Desta forma, a capacidade do HAE-4 induzir a redução da placa amiloide, via ligação à APOE4, representa uma estratégia terapêutica seletiva para indivíduos com LOAD portadores do APOE4. Apesar de se apresentar como uma terapêutica promissora, mais estudos são necessários para avaliar os pros e contras associados à utilização deste anticorpo.⁴⁴

6.2. Edição Genética da APOE pela técnica CRISPR/CAS9

O “Conjunto de Repetições Palindrômicas Curtas Regularmente Espaçadas” ou CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*), observado no genoma bacteriano, caracteriza-se pela presença de sequências de DNA curtas e repetidas. A técnica CRISPR/Cas9 recorre a uma endonuclease Cas9 e a uma molécula de RNA guia para modificar o genoma, cortando e direcionando sequências específicas de DNA.⁴⁵ A aplicação da técnica CRISPR/Cas9 para alterar alelos APOE mostrou-se bem-sucedida num conjunto de estudos envolvendo neurónios e células da glia derivados de iPSCs, e o primeiro ensaio clínico de fase I encontra-se a decorrer com o objetivo de transformar APOE4 em APOE2 recorrendo a CRISPR/Cas9.²⁴

A DA tem sido uma das doenças neurodegenerativas alvo desta terapêutica, com o objetivo de modificar os efeitos negativos da APOE4 na patogénese da doença. CRISPR/Cas9 tem como finalidade a potencial conversão do gene da APOE4 em APOE3 e, idealmente, em APOE2. A entrega de APOE2 mediada por adenovírus (AAV), em modelos animais que apresentam deposição de placa A β , mostrou reduzir os níveis de A β solúvel e insolúvel e aumentar a depuração da placa amiloide.²⁴ Por outro lado, mostrou também reduzir a fosforilação da proteína tau e a neurodegeneração a ela associada.²⁰ Além disso, a expressão de APOE2 melhorou as neurites distróficas associadas à placa amiloide e à perda de sinapses.²⁴ O sistema CRISPR/Cas9 pode também ser utilizado para realizar o “knockout” do APOE4 em indivíduos heterozigóticos APOE4/APOE3 ou APOE4/APOE2 de forma a suprimir os efeitos tóxicos inerentes à APOE4.⁴⁶ A aplicação da técnica CRISPR/Cas9, pode ser igualmente eficaz na neutralização do risco associado à APOE4, por alteração tanto do aminoácido Arg-61 como do Glu-255, envolvidos numa interação responsável pela preferência de ligação da APOE4 a lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), que conduz aos seus efeitos específicos no cérebro. Desta forma, a técnica CRISPR/Cas9 mostra-se como uma abordagem terapêutica viável para tratar indivíduos com LOAD portadores do APOE4.^{31,35,45}

6.3. Peptídeos Miméticos da APOE

Adicionalmente, podem ser utilizados peptídeos miméticos da APOE como estratégia terapêutica para a LOAD. Peptídeos miméticos são moléculas que conservam as características biológicas da APOE e simulam a sua atividade biológica, mantendo a sua capacidade de ligação a um alvo biológico.⁴⁷

Inicialmente, descobriu-se que COG1410 e COG112 são peptídeos que mimetizam a região de ligação da APOE ao recetor, constituídos por 12 e 34 aminoácidos, respetivamente. Ambos os peptídeos demonstraram ter capacidade para reduzir os níveis de A β e a concentração das placas amiloides, bem como a hiperfosforilação da tau e a neuroinflamação, prevenindo, assim, a neurodegeneração associada à DA.^{24,47} O avanço da tecnologia e a realização de novos estudos experimentais permitiram encontrar um novo peptídeo mimético da APOE – MOP – que integra duas sequências miméticas, KLVFFA e AS-Aib-LRKL-Aib-KRLL, que mimetizam a região de ligação da APOE ao peptídeo A β e a região de ligação ao recetor da APOE, respetivamente. A sequência KLVFFA simula o domínio de ligação A β da APOE e tem a capacidade de ligar A β no cérebro formando o complexo A β -MOP, que pode bloquear verdadeiramente a oligomerização e fibrilação de A β , ao contrário do que acontece com o complexo A β -APOE. Por sua vez, a sequência AS-Aib-LRKL-Aib-KRLL, que constitui o peptídeo COG1410, tem um papel fundamental na internalização do complexo A β -MOP pela microglia, via endocitose mediada pelos recetores da família LDLR.⁴⁸

Desta forma, o peptídeo mimético MOP permite a inibição da agregação de A β e também acelera a sua depuração através da microglia, reduzindo, assim, a patologia amiloide associada à DA. Sendo a BHE um dos grandes desafios na administração de moléculas no SNC, este estudo permitiu ainda verificar que a característica particular de automontagem do peptídeo MOP, por regulação das suas interações intermoleculares, lhe confere uma morfologia adequada para ser integrado num sistema de nano-entrega (APND), capaz de atravessar eficientemente a BHE, permitindo, assim, que MOP exerça o seu efeito no cérebro (Figura 6).⁴⁸

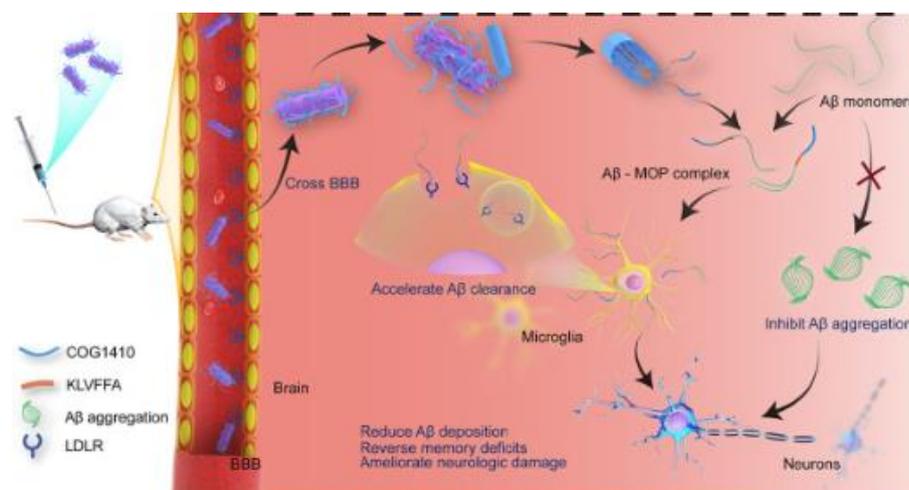


Figura 6 - Mecanismo potencial de APNDs e consequente efeito do peptídeo MOP no cérebro. Adaptado de Zhang, S., Asghar, S., Zhu, C., Ye, J., Lin, L., Xu, L., . . . Xiao, Y., 2021.

7. Conclusão

Atendendo a que a doença de Alzheimer é uma das doenças neurodegenerativas mais complexas e prevalente a nível mundial, a necessidade de encontrar terapêuticas que curem, ou, pelo menos, retardem a progressão da doença, torna-se fundamental. Contudo, a complexidade inerente à fisiopatologia da doença e as dificuldades no seu diagnóstico têm constituído desafios para os vários estudos realizados até ao momento.

A descoberta do alelo épsilon 4 da *APOE* como fator de risco genético predominante para a forma esporádica da DA, na década de 90, incitou o desenvolvimento de vários estudos, na tentativa de compreender melhor os mecanismos de atuação da *APOE* na doença, nomeadamente, a *APOE4*. Além disso, instaurou a esperança da descoberta de uma possível terapêutica que modifique o curso da doença e se traduza numa melhor qualidade de vida para os doentes e para familiares e amigos que os rodeiam.

Apesar do seu envolvimento em toda a evolução da DA, é importante referir que a *APOE* tem um papel mais ativo no início da patogénese da doença do que na sua fase de desenvolvimento, e que a sua atividade é dependente da dose e da isoforma expressa pelo doente (*APOE4*>*APOE3*>*APOE2*). A sua contribuição para a patogénese da DA deve-se sobretudo aos seus efeitos na patologia amiloide, nomeadamente, através do aumento da agregação e deposição de A β , e da diminuição da sua depuração, embora contribua também para a tauopatia.

São várias as estratégias terapêuticas promissoras que têm como alvo a *APOE* e que têm sido investigadas, contudo ainda nenhum ensaio clínico resultou em uma terapêutica aprovada, talvez devido à complexidade associada à *APOE* e às suas diferentes isoformas. Além

disso, ensaios clínicos em humanos são muito escassos, sendo os efeitos da *APOE* na patogênese da DA elucidados por estudos em modelos animais. Desta forma, mais estudos são necessários para compreender o verdadeiro contributo da *APOE* para a patogênese da DA no homem e espera-se que, num futuro próximo, os esforços reunidos por imensos investigadores resultem em terapêuticas eficazes e inovadoras.

Como futura profissional de saúde, a realização desta monografia permitiu-me compreender mais detalhadamente a DA, e perceber que são vários os profissionais que trabalham afincadamente, na perspetiva de uma terapêutica que revolucione esta doença neurológica de forma a proporcionar uma melhor qualidade de vida a todos os doentes.

O farmacêutico, como agente de saúde pública, desempenha um papel muito importante na promoção de estilos de vida saudáveis, além da sua contribuição para a promoção da adesão à terapêutica, que nestes casos pode ser uma tarefa difícil, dada a condição de saúde do doente. Além disso, enquanto futura farmacêutica considero extremamente importante que o nosso conhecimento esteja em constante atualização e seja convergente com a inovação na área da saúde e, principalmente, do medicamento, de maneira a conseguir prestar o aconselhamento necessário no auxílio a cuidadores e familiares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Fact sheets: Dementia.** (2021). Obtido em 19 de março de 2021, de World Health Organization: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
2. GRONTVEDT, G. R., SCHRODER, T. N., SANDO, S. B., WHITE, L., BRATHEN, G., & DOELLER, C. F. (2018). **Alzheimer disease.** *Current Biology*, 28, 635-655. doi:10.1016/j.cub.2018.04.080
3. LONG, J. M., & HOLTZMAN, D. M. (2019). **Alzheimer Disease: An Update on Pathobiology and Treatment Strategies .** *Cell Press*, 179(2), 312-339. doi:10.1016/j.cell.2019.09.001
4. ELHAI, F., & MILLER, B. (2017). **A clinicopathological approach to the diagnosis of dementia.** *Nature Reviews Neurology*, 13, 457-476. doi:10.1038/nrneurol.2017.96
5. KNOPMAN, D. S., AMIEVA, H., PETERSEN, R. C., CHÉTELAT, G., HOLTZMAN, D. M., HYMAN, B. T., . . . JONES, D. T. (2021). **Alzheimer disease.** *Nature reviews disease primers.* doi:10.1038/s41572-021-00269-y
6. CONGDON, E. E., & SIGURDSSON, E. M. (2018). **Tau-targeting therapies for Alzheimer disease.** *Nature Reviews Neurology* , 14, 399-415. doi:10.1038/s41582-018-0013-z
7. SAFIEH, M., KORCZYN, A. D., & MICHAELSON, D. M. (2019). **ApoE4: an emerging therapeutic target for Alzheimer's disease.** *BMC Medicine*, 17. doi:10.1186/s12916-019-1299-4
8. ROBINSON, M., LEE, B. Y., & HANE, F. T. (2017). **Recent Progress in Alzheimer's Disease Research, Part 2: Genetics and Epidemiology.** *Journal of Alzheimer's Disease*, 317-330. Obtido de <https://content.iospress.com/articles/journal-of-alzheimers-disease/jad161149>
9. CIPRIANI, G., DOLCIOTTI, C., PICHI, L., & BONUCCELLI, U. (2011). **Alzheimer and his disease: a brief history.** *Neurological Sciences*, 32, 275-279. doi:10.1007/s10072-010-0454-7
10. TOODAYAN, N. (2016). **Professor Alois Alzheimer (1864-1915): Lest we forget.** *Journal of Clinical Neuroscience*, 31, 47-55. doi:10.1016/j.jocn.2015.12.032

11. MASTERS, C. L., BATEMAN, R., BLENNOW, K., ROWE, C. C., SPERLING, R. A., & CUMMINGS, J. L. (2015). **Alzheimer's disease**. *Nature Reviews Disease Primers*. doi:10.1038/nrdp.2015.56
12. LAWS, K. R., IRVINE, K., & GALE, T. M. (2018). **Sex differences in Alzheimer's disease**. *Current Opinion in Psychiatry*, 31(2), pp. 133-139. doi:10.1097/YCO.0000000000000401
13. **2021 Alzheimer's disease facts and figures**. (2021). *Alzheimer's & Dementia*, 17(3), 327-406. doi:10.1002/alz.12328
14. DAVIS, M., O'CONNELL, T., JOHNSON, S., CLINE, S., MERIKLE, E., MARTENYI, F., & SIMPSON, K. (2018). **Estimating Alzheimer's Disease Progression Rates from Normal Cognition Through Mild Cognitive Impairment and Stages of Dementia**. *Current Alzheimer Research*, 15(8), 777-788. doi:10.2174/1567205015666180119092427
15. LANE, C., HARDY, J., & SCHOTT, J. (2018). **Alzheimer's disease**. *European Journal of Neurology*, 25(1), 59-70. doi:10.1111/ene.13439
16. WANG, Z., MA, Y., TAN, L., YU, J., ZHANG, X., & TIAN, Y. (2021). **The Epidemiology of Alzheimer's Disease Modifiable Risk Factors and Prevention**. *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*, 8, 313-321. doi:10.14283/jpad.2021.15
17. SILVA, M., LOURES, C., ALVES, L., SOUZA, L., BORGES, K., & CARVALHO, M. (2019). **Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures**. *Journal of Biomedical Science*, 26. doi:10.1186/s12929-019-0524-y
18. GIRI, M., ZHANG, M., & LU, Y. (2016). **Genes associated with Alzheimer's disease: an overview and current status**. *Clinical Interventions in Aging*, 11, 665-681. doi:10.2147/CIA.S105769
19. LOTT, I. T., & HEAD, E. (2019). **Dementia in Down syndrome: unique insights for Alzheimer disease research**. *Nature Reviews Neurology*, 15(3), 135-147. doi:10.1038/s41582-018-0132-6
20. WISNIEWSKI, T., & DRUMMOND, E. (2020). **APOE-amyloid interaction: Therapeutic targets**. *Neurobiology of Disease*, 138. doi:10.1016/j.nbd.2020.104784

21. CROUS-BOU, M., MINGUILLÓN, C., GRAMUNT, N., & MOLINUEVO, J. (2017). **Alzheimer's disease prevention: from risk factors to early intervention.** *Alzheimer's research & therapy*, 9. doi:10.1186/s13195-017-0297-z
22. 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. doi:10.2147/IJN.S200490
23. KHAN, S., BARVE, K. H., & KUMAR, M. S. (2020). **Recent Advancements in Pathogenesis, Diagnostics and Treatment of Alzheimer's Disease.** *Current Neuropharmacology*, 18, 1106-1125. doi:10.2174/1570159X18666200528142429
24. SERRANO-POZO, A., DAS, S., & HYMAN, B. T. (2021). **APOE and Alzheimer's Disease: Advances in Genetics, Pathophysiology, and Therapeutic Approaches.** *The Lancet, Neurology*, 20(1), 68-80. doi:10.1016/S1474-4422(20)30412-9
25. ABEYSINGHE, A., DESHAPRIYA, R., & UDAWATTE, C. (2020). **Alzheimer's disease; a review of the pathophysiological basis and therapeutic interventions.** *Life Sciences*, 256. doi:10.1016/j.lfs.2020.117996
26. MOHAMED, T., SHAKERI, A., & RAO, P. (2016). **Amyloid cascade in Alzheimer's disease: Recent advances in medicinal chemistry.** *European Journal of Medicinal Chemistry*, 113, 258-272. doi:10.1016/j.ejmech.2016.02.049
27. YUKSEL, M., & TACAL, O. (2019). **Trafficking and proteolytic processing of amyloid precursor protein and secretases in Alzheimer's disease development: An up-to-date review.** *European Journal of Pharmacology*, 856. doi:10.1016/j.ejphar.2019.172415
28. GULISANO, W., MAUGERI, D., BALTRONS, M., FÁ, M., AMATO, A., PALMERI, A., . . . ARANCIO, O. (2018). **Role of Amyloid- β and Tau Proteins in Alzheimer's Disease: Confuting the Amyloid Cascade.** *Journal of Alzheimer's Disease*, 611-681. doi:10.3233/JAD-179935
29. WEGMANN, S., BIERNAT, J., & MANDELKOW, E. (2021). **A current view on Tau protein phosphorylation in Alzheimer's disease.** *Current Opinion in Neurobiology*, 69, 131-138. doi:10.1016/j.conb.2021.03.003
30. JOUANNE, M., RAULT, S., & VOISIN-CHIRET, A. (2017). **Tau protein aggregation in Alzheimer's disease: An attractive target for the development of novel**

therapeutic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 139, 153-167. doi:10.1016/j.ejmech.2017.07.070

31. MAHLEY, R. M. (2016). **Apolipoprotein E: from cardiovascular disease to neurodegenerative disorders.** *Journal of Molecular Medicine*, 739-746. doi:10.1007/s00109-016-1427-y
32. YAMAZAKI, Y., ZHAO, N., CAULFIELD, T., LIU, C., & BU, G. (2019). **Apolipoprotein E and Alzheimer disease: pathobiology and targeting strategies.** *Nature reviews. Neurology*, 15, 501-518. doi:10.1038/s41582-019-0228-7
33. JEONG, W., LEE, H., CHO, S., & SEO, J. (2019). **ApoE4-Induced Cholesterol Dysregulation and Its Brain Cell Type-Specific Implications in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease.** *Molecules and cells*, 42, 739-746. doi:10.14348/molcells.2019.0200
34. TROUTWINE, B., HAMID, L., LYSAKER, C., STROPE, T., & WILKINS, H. (2022). **Apolipoprotein E and Alzheimer's disease.** *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 12, 496-510. doi:10.1016/j.apsb.2021.10.002
35. WOLFE, C., FITZ, N., NAM, K., LEFTEROV, I., & KOLDAMOVA, R. (2018). **The Role of APOE and TREM2 in Alzheimer's Disease - Current Understanding and Perspectives.** *International Journal of Molecular Sciences*, 20(1). doi:10.3390/ijms20010081
36. EMRANI, S., ARAIN, H., DeMARSHALL, C., & NURIEL, T. (2020). **APOE4 is associated with cognitive and pathological heterogeneity in patients with Alzheimer's disease: a systematic review.** *Alzheimer's Research & Therapy*, 12. doi:10.1186/s13195-020-00712-4
37. HAMPEL, H., HARDY, J., BLENNOW, K., CHEN, C., PERRY, G., KIM, S., . . . VERGALLO, A. (2021). **The Amyloid- β Pathway in Alzheimer's Disease.** *Molecular Psychiatry*, 26, 5481-5503. doi:10.1038/s41380-021-01249-0
38. SHI, Y., & HOLTZMAN, D. M. (2018). **Interplay between innate immunity and Alzheimer disease: APOE and TREM2 in the spotlight.** *Nature Reviews Immunology*, 18. doi:10.1038/s41577-018-0051-1
39. HUANG, Y., ZHOU, B., WERGIN, M., & SUGHOF, T. (2017). **ApoE2, ApoE3, and ApoE4 Differentially Stimulate APP Transcription and A β Secretion.** *Cell*, 168, 427-441. doi:https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.12.044

40. LIU, C., KANEKIYO, T., XU, H., & BU, G. (2013). **Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms, and therapy.** *Nature Reviews Neurology*, 9, 106-118. doi:10.1038/nrneurol.2012.263
41. LI, Y., MACYCKO, J., LIU, C., & BU, G. (2022). **ApoE4 reduction: An emerging and promising therapeutic strategy for Alzheimer's disease.** *Neurobiology of Aging*, 115, 20-28. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2022.03.011
42. THEENDAKARAA, V., BREDESENAB, D., & RAO, R. (2017). **Downregulation da proteína fosfatase 2A pela apolipoproteína E: Implicações para a doença de Alzheimer.** *Molecular and Cellular Neuroscience*, 83, 83-91. doi:10.1016/j.mcn.2017.07.002
43. SHI, Y., YAMADA, K., LIDDELOW, S., SMITH, S., ZHAO, L., LUO, W., . . . HOLTZMAN, D. (2017). **ApoE4 markedly exacerbates tau-mediated neurodegeneration in a mouse model of tauopathy.** *Nature*, 549, 523-527. doi:10.1038/nature24016
44. LIAO, F., LI, A., XIONG, M., BIEN-LY, N., JIANG, H., ZHANG, Y., . . . HOLTZMAN, D. (2018). **Targeting of nonlipidated, aggregated apoE with antibodies inhibits amyloid accumulation.** *The Journal of Clinical Investigation*. doi:10.1172/JCI96429
45. ROHN, T., KIM, N., ISHO, N., & MACK, J. (2018). **The Potential of CRISPR/Cas9 Gene Editing as a Treatment Strategy for Alzheimer's Disease.** *Journal of Alzheimer's disease & Parkinsonism*, 8. doi:10.4172/2161-0460.1000439
46. MAMUN, A., UDDIN, M., BASHAR, M., ZAMAN, S., BEGUM, Y., BULBUL, I., . . . ABDEL-DAIM, M. (2020). **Molecular Insight into the Therapeutic Promise of Targeting APOE4 for Alzheimer's Disease.** *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. doi:10.1155/2020/5086250
47. AHMED, A., PANDE, A., & SHARMA, S. (2022). **Therapeutic potential of ApoE-mimetic peptides in CNS disorders: Current perspective.** *Experimental Neurology*, 353. doi:10.1016/j.expneurol.2022.114051
48. ZHANG, S., ASGHAR, S., ZHU, C., YE, J., LIN, L., XU, L., . . . XIAO, Y. (2021). **Multifunctional nanorods based on self-assembly of biomimetic apolipoprotein E peptide for the treatment of Alzheimer's disease.** *Journal of Controlled Release*, 637-649. doi:10.1016/j.jconrel.2021.05.044