



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Paulo Jorge Fernandes da Silva Marques

Relatórios de Estágio sob a orientação da Dra. Teresa Bernardes Antunes e do Dr. David Costa e Monografia intitulada “Papel do ácido cólico na Síndrome de Zellweger” sob a orientação da Professora Doutora Maria Manuel Silva, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Paulo Jorge Fernandes da Silva Marques

Relatórios de Estágio sob a orientação da Dra. Teresa Bernardes Antunes e do Dr. David Costa e Monografia intitulada “Papel do ácido cólico na Síndrome de Zellweger” sob a orientação da Professora Doutora Maria Manuel Silva, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023

Eu, Paulo Jorge Fernandes da Silva Marques, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2018281780, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Papel do ácido cólico na Síndrome de Zellweger” 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 informação 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, 1 de setembro de 2023

Paulo Jorge Fernandes da Silva Marques

(Paulo Jorge Marques)

## **Agradecimentos**

Aos meus pais, avós e tios pela paciência e apoio moral constante nestes 5 anos. Obrigado pelos conselhos, e por estarem sempre ao meu lado tanto nos momentos bons como nos maus.

À minha Phartuna, a Tuna de Farmácia de Coimbra, que me acolheste e me mostraste como poderia melhorar pessoalmente. Obrigado pelas experiências vividas, aventuras inesquecíveis e memórias construídas.

Aos meus amigos que me apoiaram sempre nos momentos mais complicados e nunca desistiram de mim. Obrigado por terem feito parte do meu percurso e pelas nossas conversas, risos e vivências.

Às amizades que surgiram ao longo do curso. Obrigado por estes 5 anos maravilhosos e por me ajudarem a crescer ano após ano.

À Professora Doutora Maria Manuel Silva pela ajuda e disponibilidade na orientação desta monografia.

À Dra. Teresa Bernardes Antunes e à equipa da farmácia Teresa Bernardes Antunes pelos ensinamentos, espírito de equipa e confiança.

Ao Dr. David Costa e à equipa pelos ensinamentos, confiança e esclarecimento de dúvidas.

A ti, Coimbra, que me viste crescer e que me tornaste num homem pronto para o futuro profissional. Obrigado pelas memórias. A ti te levarei para sempre no meu coração.

# Índice

Agradecimentos.....	3
<b>Parte 1 - Relatório de estágio em Farmácia Comunitária</b>	
Lista de Abreviaturas.....	7
1. Introdução .....	8
2. Análise SWOT.....	8
2.1 Forças ( <i>Strengths</i> ) .....	9
2.1.1. Equipa .....	9
2.1.2. Localização .....	9
2.1.3. Serviços farmacêuticos .....	10
2.1.4. Robot.....	10
2.1.5. Preparação de medicação para entrega .....	10
2.1.6. Valorização dos estagiários.....	10
2.2 Fraquezas ( <i>Weaknesses</i> ).....	11
2.2.1. Reduzida preparação de manipulados .....	11
2.2.2. Receitas manuais.....	11
2.2.3. Alteração frequente dos preços .....	11
2.3. Oportunidades ( <i>Opportunities</i> ).....	12
2.3.1. Formações constantes .....	12
2.3.2. Utilização do Sifarma 2000® e do Sifarma novo .....	12
2.3.3. Testes covid e injetáveis .....	12
2.4. Ameaças ( <i>Threats</i> ).....	13
2.4.1. Medicamentos esgotados/rateados.....	13
2.4.2. Venda de MNRM em parafarmácias e de leites para lactentes.....	13
2.4.3. Listas de espera para a obtenção de medicamentos .....	13
3. Casos práticos .....	13
4. Conclusão .....	15
Referências bibliográficas.....	
<b>Parte II - Relatório de estágio em Assuntos Regulamentares na empresa Basepoint</b>	
1. Introdução .....	18
2. Atividades e Formações.....	18
3. Análise SWOT.....	21
3.1. Forças ( <i>Strengths</i> ).....	21
3.1.1. Equipa da empresa .....	21
3.1.2. Desenvolvimento de competências informáticas .....	21
3.1.3. Trabalho em equipa.....	22

3.1.4. Diversidade de tarefas realizadas.....	22
3.1.5. Autonomia na realização de trabalhos .....	22
3.2. Fraquezas ( <i>Weaknesses</i> ).....	22
3.2.1. Duração reduzida do estágio.....	22
3.2.2. Modalidade de teletrabalho .....	22
3.3. Oportunidades ( <i>Opportunities</i> ).....	23
3.3.1. Formações.....	23
3.4. Ameaças ( <i>Threats</i> ).....	23
4. Conclusão .....	23
5. Referências bibliográficas .....	25

**Parte III - Monografia intitulada "Papel do ácido cólico na síndrome de Zellweger"**

Resumo.....	27
1. Introdução à síndrome de Zellweger.....	31
1.1 Etiologia .....	31
1.2. Epidemiologia.....	32
1.3. Caracterização clínica .....	33
2. Estratégias terapêuticas para a síndrome de Zellweger .....	33
3. Mecanismo de ação do ácido cólico: relevância dos peroxissomas e o seu papel na biossíntese de ácidos biliares a partir do colesterol no fígado .....	34
4. Estudos clínicos com ácido cólico na síndrome de Zellweger.....	42
Estudo clínico 1 .....	42
Estudo clínico 2 .....	43
5. Conclusões e perspectivas futuras.....	46
Referências bibliográficas.....	47

# **Capítulo I**

## **Relatório de estágio em Farmácia Comunitária**

### **Farmácia Teresa Bernardes Antunes**

Estágio orientado pela Dra. Teresa Bernardes Antunes



## **Lista de Abreviaturas**

EC – Estágio Curricular

FC – Farmácia Comunitária

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamentos não sujeitos a Receita Médica

MSRM – Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

PIM – Preparação individualizada da Medicação

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

TBA – Teresa Bernardes Antunes



## I. Introdução

Após o término de 9 semestres do Mestrado Integrado de Ciências Farmacêuticas (MICF), lecionado pela Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, onde tivemos a oportunidade de contactar com diversas cadeiras curriculares multidisciplinares que abrangem a vertente Farmacológica, surge a etapa final e crucial para a atribuição do grau de Mestre: o Estágio Curricular (EC), componente em que o estudante é avaliado através da elaboração e defesa de uma Monografia e respetivos relatórios de estágio. No meu caso particular, optei por iniciar o EC em Farmácia Comunitária (FC). O contacto com a Farmácia Comunitária é essencial para a aplicação prática dos conhecimentos teóricos adquiridos ao longo deste percurso, prepara-nos para a entrada no mercado de trabalho e possibilita o desenvolvimento pessoal e profissional. Foi neste EC, que experienciei o papel preponderante do Farmacêutico Comunitário nas mais diversas valências e a sua contribuição na melhoria do estado de saúde dos utentes, através de uma comunicação assertiva e uma correta dispensa de medicamentos. O meu EC decorreu de 9 de janeiro de 2023 a 28 de abril de 2023, sob a orientação da proprietária e Diretora Técnica, a Doutora Teresa Bernardes Antunes, o qual resultou no presente relatório de estágio, constituído por uma análise SWOT, que analisa de forma crítica a minha passagem pelo estágio e que resume os pontos fortes e fracos assim como as oportunidades e ameaças e, por último, a apresentação de cinco casos práticos que considerei mais relevantes e com os quais me deparei na farmácia.

## 2. Análise SWOT

Tabela I – Análise SWOT.

<b>Forças</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Serviços farmacêuticos</li><li>• Robot</li><li>• Medicação para entrega</li><li>• Valorização dos estagiários</li></ul>	<b>Oportunidades</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Formações constantes</li><li>• Utilização do Sifarma 2000 e do Sifarma novo</li><li>• Testes covid e injetáveis</li></ul>
<b>Fraquezas</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Reduzida preparação de manipulados</li><li>• Receitas manuais</li><li>• Alteração frequente dos preços</li></ul>	<b>Ameaças</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Medicamentos esgotados/rateados</li><li>• Vendas online e estabelecimentos de venda de MNSRM</li><li>• Listas de espera</li></ul>

## **2.1 Forças (*Strengths*)**

### **2.1.1. Equipa**

Uma equipa coesa e multidisciplinar é um pilar extremamente importante para um percurso com sucesso. Na FC, tive o gosto de trabalhar com uma equipa dinâmica, constituída por profissionais altamente competentes e atenciosos, que demonstraram sempre interesse em esclarecer as dúvidas que me iam surgindo e foram acompanhando o meu progresso, sendo que, desta forma, contribuíram para a minha aprendizagem e formação. A equipa era composta por cinco farmacêuticos e uma Técnica de Farmácia. Para além deste aspeto, deparei-me com um espírito de entreatajuda e amizade entre os meus colegas, o que me facilitou a integração e me proporcionou um crescimento pessoal e profissional.

### **2.1.2. Localização**

A farmácia TBA localiza-se na urbanização Santa Apolónia. Apesar de ficar um pouco longe do centro, encontra-se rodeada de zonas habitacionais e zonas comerciais. Além disso, tem uma boa acessibilidade porque tem a IC2 como caminho mais direto, o que permite chegar lá de carro em cerca de 15/20 minutos, o que é uma vantagem tanto para quem trabalha na farmácia como para os próprios utentes. A farmácia TBA encontra – se bem organizada e tem uma ótima gestão de espaço. A farmácia dispõe de 6 balcões de atendimento, 4 deles agregados, em que atrás temos o robô e medicamentos de venda livre como suplementos alimentares, para higiene oral, entre outros, um balcão um pouco mais afastado, que apresenta por trás medicamentos veterinários e outro balcão isolado, cuja retaguarda é composta por produtos dermocosméticos. Apresenta também um laboratório, no qual são preparados manipulados, um gabinete do utente onde são realizadas consultas de nutrição e medições do perfil lipídico e da glicémia, uma sala onde são administrados injetáveis e onde decorrem testes covid, quando necessário e um armazém com medicamentos rejeitados do robô, excedentes e dispositivos médicos como câmaras expansoras. A farmácia apresenta um robô constituído por MSRM e alguns MNSRM e apresenta duas bocas de saída de medicamentos, em que cada boca corresponde a 3 balcões Este tipo de tecnologia surgiu há cerca de um ano na farmácia e veio rentabilizar e acelerar o processo de dispensa de medicamentos.

Ao longo do estágio, tive o prazer de acompanhar os meus colegas à Plural para receber medicamentos para utentes que precisassem deles o mais depressa possível. Além disso, realizei domicílios com a minha colega de modo a ajudar e a ter um contacto mais próximo com o utente. Infelizmente, não pude ir ao lar porque o espaço para trabalhar, atualmente, é muito reduzido e, para três pessoas torna-se mais complicado em realizar a PIM.

### **2.1.3. Serviços farmacêuticos**

Na FC, estão disponíveis vários serviços farmacêuticos como a medição do peso e da tensão arterial, são realizadas análises à urina através de testes Combur, faz-se a medição do perfil lipídico e da hemoglobina glicada, realizam-se testes Covid e mede-se a glicémia e há entrega de medicamentos ao domicílio. Os testes Combur são testes de urina rápidos que fornecem resultados confiáveis e precisos. Recentemente surgiu na farmácia o teste Cobas para a medição da hemoglobina glicada e do perfil lipídico. Esta última medição abrange os níveis de colesterol total, HDL, LDL, colesterol não-HDL e de triglicéridos. Estes serviços são fundamentais para uma farmácia porque permitem ir acompanhando os parâmetros/ estado de saúde dos utentes e saber se certas patologias como a diabetes se encontram controladas ou não. Além disso, ao concentrar na farmácia estes serviços, os utentes, especialmente os que vive perto da farmácia não precisam de ir a laboratórios de análises clínicas para medir certos parâmetros.

### **2.1.4. Robot**

O *robot* é uma mais – valia para a farmácia porque aumenta a velocidade de dispensa dos medicamentos e a eficiência além de otimizar o espaço destinado ao armazenamento dos mesmos.

### **2.1.5. Preparação de medicação para entrega**

Na FC, existe uma boa afluência na preparação de medicamentos para entrega em lares. Através do meu estágio, consegui perceber o processamento de receitas no Sifarma 2000® e o procedimento envolvido nessa etapa. Isto permitiu enriquecer a minha experiência de *backoffice*. Outro tipo de entrega que é realizado é a entrega ao domicílio. Este tipo de entrega é extremamente valioso uma vez que, neste caso, os utentes não precisam de sair de casa para ir buscar um determinado medicamento. Durante este estágio, eu tive oportunidade de acompanhar a minha colega Patrícia, a responsável pelos domicílios, a casa dos utentes, o que me permitiu criar maior empatia com os utentes e estar disponível para ajudá-los no que fosse preciso.

### **2.1.6. Valorização dos estagiários**

O facto de a farmácia aceitar um estagiário por semestre é extremamente benéfico porque permite que pessoas do último ano de faculdade possam ficar com uma ideia de como funciona

o trabalho numa FC com uma equipa, para além de que traz uma boa imagem da farmácia para os utentes, pois estes apercebem-se da presença de estagiários e da interação e entreaajuda entre todos. Esta valorização culmina na deposição de um grau de confiança no estagiário, dado que lhe é permitido atender os utentes, ainda que com supervisão, concedendo a oportunidade de mostrar o seu valor e aplicar os conhecimentos teóricos na prática.

## **2.2 Fraquezas (*Weaknesses*)**

### **2.2.1. Reduzida preparação de manipulados**

A farmácia não é especializada na preparação de manipulados, portanto, não teve contacto suficiente nem possibilidade de preparar diferentes formas farmacêuticas de manipulados.

### **2.2.2. Receitas manuais**

A presença de receitas manuais, ainda que cada vez menos utilizadas no dia a dia trata – se também de uma limitação, podendo ser um desafio devido à caligrafia do prescriptor, que muitas vezes não é fácil de ler, acabando por suscitar dúvidas, podendo resultar numa má dispensa dos medicamentos.

Em relação a ameaças, a falta de medicamentos é um ponto importante porque ocorre frequentemente que certos medicamentos estão esgotados no circuito do medicamento, pondo em causa a normal aquisição por parte do utente e consequente terapêutica. Outro ponto é a falta de credibilidade no estagiário. Com isto quero dizer que certos utentes não se sentem tão confortáveis a serem atendidos por um estagiário, que tem menos experiência. O facto de a farmácia não apresentar todas as marcas de produtos de dermocosmética torna uma ameaça dado que os utentes têm que se deslocar a outras farmácias para adquirir esses produtos.

### **2.2.3. Alteração frequente dos preços**

A alteração frequente dos preços revelou – se como um fator de difícil resolução. Até ao fim do EC, era necessário verificar os preços dos medicamentos e mudá-los caso fosse oportuno. Isto acaba por ser um constrangimento para os próprios utentes pois estes podem não querer levar um determinado medicamento por ser muito caro ou pretender ir a outra farmácia onde seja mais barato. No entanto, os MSRM têm um preço definido em todas as farmácias.

Relativamente a oportunidades, o facto de poder estar na linha da frente de uma farmácia, na parte do atendimento permite-me desenvolver enquanto profissional e contribuir para a saúde dos utentes.

## **2.3. Oportunidades (*Opportunities*)**

### **2.3.1. Formações constantes**

As formações constantes foram extremamente vantajosas para mim ao longo do EC. Assisti a várias formações na farmácia de produtos da *Roche Posay*<sup>®</sup> e da *Skinceuticals*<sup>®</sup>, de meias de compressão, e de produtos bucodentários da gama *Elgydium*<sup>®</sup> (colutórios, escovas, pastas dentrificas) o que me permitiu alargar/ aprofundar o conhecimento acerca das marcas e atualizar a informação / estar a par de novos produtos disponíveis no mercado. Também tive 2 formações no Tertúlia de Eventos organizados pela Zambon, sobre o papel do farmacêutico na tosse (marca *Fluimucil*<sup>®</sup>) e na dor (marca *Spidifen*<sup>®</sup>), que foram úteis para ter uma visão mais clara do aconselhamento farmacêutico desse tipo de produtos. Para além das formações, importa salientar o contacto com delegados externos na farmácia.

### **2.3.2. Utilização do Sifarma 2000<sup>®</sup> e do Sifarma novo**

A utilização dos dois sistemas informáticos foi uma vantagem porque, além de aprender a trabalhar nos dois, prepara-me para a eventualidade de vir a trabalhar numa farmácia que trabalhe tanto com o sistema antigo como com o novo.

### **2.3.3. Testes Covid e injetáveis**

Considero também uma oportunidade a possibilidade de assistir a testes Covid, ainda que realizados de uma forma menos frequente e igualmente administração de injetáveis. Esta observação foi importante para perceber como se realizam e qual o procedimento a ser cumprido.

## **2.4. Ameaças (*Threats*)**

### **2.4.1. Medicamentos esgotados/rateados**

A carência de medicamentos é uma realidade e ao longo do estágio deparei-me com a falta de determinados medicamentos como o Cardura® 8 mg, o Ovestin® 1mg e o Sargenor® 5000 mg, medicamentos estes que são muito importantes e conhecidos pelos utentes. Estes problemas refletiram – se nos atendimentos, porque tínhamos que explicar ao utente a razão de não fornecermos o medicamento que precisa. Um medicamento rateado é a designação atribuída a medicamentos que apresentam uma disponibilidade reduzida no armazém e que não são suficientes para abastecer o mercado. Tudo isto revela-se uma ameaça porque não são satisfeitas as necessidades terapêuticas dos utentes.

### **2.4.2. Venda de MNRM em parafarmácias e de leites para lactentes**

A venda de MNRM em parafarmácias e de leites para lactentes assim como vendas online, é considerada uma ameaça para a farmácia porque estes estabelecimentos oferecem preços mais atrativos para os clientes, o que leva a que os utentes se sintam tentados a comprar estes produtos sem qualquer tipo de aconselhamento. Isto é pouco seguro, porque o utente fica suscetível ao aparecimento de reações adversas, quer por toma indevida da medicação ou toma concomitante com medicamentos que possam causar interação.

### **2.4.3. Listas de espera para a obtenção de medicamentos**

As listas de espera podem ser mais uma ameaça para a FC uma vez que o longo tempo de espera por parte dos utentes pode fazer com que estes acabem por desistir de adquirir o medicamento e acabem por comprar online ou noutras farmácias que tenham uma lista de espera menor.

## **3. Casos práticos**

**Caso I** - Uma grávida chegou à farmácia e queixou-se que sentia refluxo e azia e queria saber o que poderia tomar para aliviar a sensação incomodativa.

Eu aconselhei que tomasse Gaviscon®, porque contém alginato de sódio que atua pela formação de uma barreira espessa no topo do conteúdo do estômago e evita que o ácido suba até ao esófago. Isto significa que Gaviscon® não necessita de entrar na circulação sanguínea

para permitir um alívio eficaz, sendo mais seguro para a gravidez. O Gaviscon® alivia o refluxo, azia e indigestão até 4h.

**Caso 2** - Um utente foi à farmácia e queixou-se que nos últimos dias tinha tido uma tosse seca irritativa acompanhada de expetoração verde, bastante desconfortável e queria algo para aliviar o desconforto. Eu aconselhei uns comprimidos para a tosse, cujo princípio ativo é a erdosteína, que vai simultaneamente aumentar a eliminação da expetoração, através da redução da viscosidade do muco. Além disso, disse para o utente tomar um suplemento vitamínico (*Energy*) contendo vitamina C e zinco para melhorar as defesas do organismo, contribuindo para o normal funcionamento do sistema imunológico. Acrescentei que, caso a situação não melhorasse nas próximas semanas, deve consultar um médico porque poderá ter uma infeção que esteja a causar esses sintomas.

**Caso 3** - Utente chegou á farmácia queixando – se de ter uma obstipação a ocorrer há cerca de 3 dias e queria algo natural para aliviar e fazer funcionar o intestino.

Eu aconselhei um suplemento alimentar 100 % natural, o Sollievo® que deve ser tomado à noite, de modo a que o utente vá à casa de banho no dia a seguir de manhã uma vez que vai aumentar a motilidade intestinal e a hidratação das fezes. Este suplemento é constituído por senósidos que permitem que as bactérias do cólon libertem os metabolitos ativos de modo gradual, tornando o efeito do Sollievo® mais suave. Este suplemento acaba por ser mais seguro porque não causa dores, como acontece com o Dulcolax®, cujo princípio ativo é o bisacodilo.

**Caso 4** - Um utente foi à farmácia pedir algo para o olho seco. Eu aconselhei o uso de Hyabak®, formulado com actinoquinol e 0,15% de hialuronato de sódio que apresenta um efeito lubrificante, hidratante, e hipotónica. O seu uso proporciona conforto imediato. Não contém conservantes e pode, inclusive, ser utilizado com lentes de contato. Recomendiei ao utente o uso de compressas geladas para aliviar o desconforto e a subsequente lavagem dos olhos pela manhã com soro fisiológico para não acumular secreção.

**Caso 5** – Um utente chegou à farmácia e queixou – se que tinha o olho vermelho e seco a lacrimejar e sentia uma ligeira irritação e comichão à volta do olho.

Eu aconselhei que a senhora aplicasse gotas para os olhos da marca Zabak®, cujo princípio ativo é o cetotifeno, que tem um efeito anti-histamínico. Recomendiei à senhora que limpasse de manhã os olhos com soro fisiológico unidose Aposan®, que não apresenta conservantes nem agentes tampão e vai hidratar o olho.

## 4. Conclusão

Para concluir, considero que o estágio foi bastante bem estruturado, no sentido em que inicialmente comecei no *backoffice* e posteriormente estive no módulo de atendimento o que me permitiu adquirir mais confiança e segurança e entender melhor o processo de atendimento. Foi um estágio completo e enriquecedor que me permitiu desenvolver pessoal e profissionalmente e expandir horizontes. Termino o meu relatório de estágio com agradecimentos à proprietária e Diretora Técnica Dra. Teresa Bernardes Antunes, pelo constante apoio e incentivo, pelos ensinamentos e por me “ter aberto portas” para a realização do meu EC e ainda agradecer igualmente aos meus colegas, Catarina Saraiva, Elisabete Silva, Jéssica Antunes, Patrícia Flores, Rúben Lobo e Tiago Neves, por todos os ensinamentos, pelo espírito de equipa e pelos bons momentos de convívio.



## Referências bibliográficas

Ménégoz-Couque, B., & Brard, M. (1985). Gaviscon. *Soins; La Revue de Reference Infirmiere*, 455. <https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.1976.tb141192.x>

Em, A. (2023). *Aprovado em 30-06-2023 infarmed*

## **Capítulo II**

### **Relatório de estágio em Assuntos Regulamentares**

Basepoint Consulting Services



## **I. Introdução**

O último semestre do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Coimbra consiste na realização de 2 estágios, sendo um deles obrigatoriamente em Farmácia Comunitária e o outro em Farmácia Hospitalar, Indústria Farmacêutica, entre outras áreas. Eu realizei os estágios em Farmácia Comunitária, e em Indústria Farmacêutica, mais especificamente na área dos Assuntos Regulamentares.

De 3 de maio de 2023 a 28 de julho de 2023 estagiei na empresa Basepoint. Trata-se de uma empresa de consultoria e serviços empresariais, especializada em cosméticos, biocidas, regulamento *Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals* (REACH), dispositivos médicos, suplementos alimentares e serviços laboratoriais. A Basepoint iniciou a sua atividade em 2015 e desde então tem vindo a desenvolver-se e a crescer, apresentando mais de 250 clientes e atuando em mais de 30 países.

A empresa é constituída por uma equipa multidisciplinar, composta por 4 membros: o Dr. Rafael, a Dra. Carmen, a Dra. Inês e o Dr. David. Todos trabalham na modalidade de teletrabalho, sendo cada um deles responsável por áreas de atuação na empresa.

O estágio teve a duração de 3 meses, tendo sido realizado na modalidade de teletrabalho a 100 %, sob a supervisão do Dr. David Costa. No primeiro contacto com a empresa, fiquei a saber que integrava uma equipa de estagiários juntamente com duas colegas de curso. Foi-nos comunicado que iríamos ter reuniões de trabalho utilizando o programa Microsoft Teams. O horário de trabalho foi das 09:00 às 17:00, com 20 minutos de pausa de manhã entre as 11h e 11h e 20 min. e intervalo para almoço de 1h.

## **2. Atividades e Formações**

Durante o estágio abordámos os seguintes temas: cosméticos, suplementos alimentares e dispositivos médicos. Assim, realizei os seguintes trabalhos:

- Avaliação da rotulagem de suplementos;
- Avaliação de alegações de produtos cosméticos (como por exemplo *flyers* promocionais);
- Identificação dos produtos como biocidas, dispositivos médicos ou medicamentos de acordo com as alegações;
- Caracterização de 3 produtos cosméticos;

- Realização de 2 quizzes sobre cosméticos;
- Realização de dois PIF (*Product Identification File*), um sobre um sabão de azeite e outro sobre um creme corporal;
- Resumo toxicológico de alguns metais pesados;
- Pesquisa de laboratórios responsáveis por testes de eficácia em cosméticos;
- Pesquisa de artigos de sapatos terapêuticos (exemplo de um dispositivo médico) que sejam utilizados na prevenção de varizes, para pernas cansadas, melhoria da circulação, e em profissionais de saúde;
- Realização de um teste com escolhas múltiplas e perguntas de resposta curta de consolidação sobre cosméticos.

Gostaria de salientar que para realizar alguns dos trabalhos recebemos formação por parte dos membros da empresa Basepoint. Designadamente, foram-nos ministradas as seguintes formações, sobre:

- Rotulagem de suplementos alimentares;
- Rotulagem de produtos cosméticos;
- Legislação de cosméticos e suplementos alimentares;
- Legislação de dispositivos médicos;
- Como realizar um PIF;
- Regulamentos REACH e *Classification, Labelling and Packaging (CLP)*.

Vou, então, descrever detalhadamente cada um desses pontos.

Começando pelos suplementos alimentares, falámos das alegações de saúde e nutricionais permitidas por lei e das informações que têm de constar num suplemento alimentar, as quais são: a denominação de um género alimentício, a lista de ingredientes, a quantidade de determinados ingredientes ou categorias de ingredientes como vitaminas e minerais, a quantidade líquida de um género alimentício, a data de durabilidade mínima ou a data limite de consumo, o nº de lote, indicação do estado físico/apresentação, a indicação de que os SA não são substitutos de um regime alimentar variado; a toma diária; as advertências “Não deve ser excedida a toma diária indicada” e “O produto deve ser guardado fora do alcance das crianças”; os alergénios, caso estejam presentes; a informação obrigatória é facilmente visível e está claramente legível; são respeitadas as dimensões dos caracteres (altura igual ou superior

a 1.2 mm ou, em embalagens com superfície maior inferior a 80 cm<sup>2</sup>, igual ou superior a 0,9 mm; as condições especiais de conservação e/ou de utilização; o nome ou a firma e o endereço do operador da empresa; o país de origem ou local de proveniência; o modo de emprego, quando a sua omissão dificultar uma utilização adequada do género alimentício; uma declaração nutricional e o título alcoométrico volúmico adquirido, no caso de bebidas com um título alcoométrico volúmico superior a 1.2%. Além disso, preenchemos uma tabela de notificação de suplementos alimentares, através da verificação de 7 requisitos, que devem ser levados em conta para classificar um produto como suplemento (Europeu et al., 2011). A notificação é enviada à Direção Geral da Alimentação e Veterinária (DGAV) antes de colocar o suplemento no mercado.

Relativamente aos cosméticos, na avaliação da rotulagem foi possível obter uma visão geral da informação contida no rótulo de um produto cosmético. Na formação foram explicitados quais os itens obrigatórios que devem constar num rótulo. Tratam-se de: nome e morada da pessoa responsável, país de origem, conteúdo nominal no momento do acondicionamento, data de durabilidade mínima ou período pós-abertura, precauções especiais de utilização, número de lote ou referência, função do cosmético, lista de ingredientes, reivindicações sobre o cosmético, requisitos linguísticos e símbolo do ponto verde (Cosm, 2019).

No que diz respeito ao tema das alegações, aprendemos que existem 6 critérios que devem ser tidos em conta: o critério de veracidade, honestidade, imparcialidade, sustentação de prova, conformidade legal e tomada de decisão informada (Produtos, 2017). No estágio realizámos exercícios de avaliação das alegações recorrendo a esses mesmos critérios.

Nos dispositivos médicos abordámos sucintamente os pontos do seu regulamento como definições, requisitos para colocação no mercado, avaliação de conformidade. Além disso, falámos das diferentes classes de dispositivos médicos. No entanto, devido à curta duração do estágio não foi possível explorar tanto esse tema.

O PIF é um ficheiro de informações sobre um produto, que é obrigatório para todos os cosméticos colocados no mercado da União Europeia. Este é constituído por 2 partes: a parte A, que diz respeito à informação sobre a segurança do produto cosmético e a parte B, que corresponde à avaliação efetiva da segurança do produto. Aprendemos a explorar cada uma das secções do PIF desde a caracterização de impurezas e substâncias proibidas dos produtos aos relatórios de toxicologia e avaliação dos efeitos sistémicos e cálculo da margem de segurança (valor Mos) com base nos valores de NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*) e SED (*Systemic Exposure Dose*)(Bernauer et al., 2021). Gostaria de mencionar que o trabalho sobre o PIF tornou-se mais moroso, mas foi muito importante para a nossa formação uma

vez que nos permitiu melhorar a nossa escrita científica e aprender a resumir o que é mais importante e avaliar se um produto pode ser lançado no mercado ou se é pouco seguro para os consumidores.

Por fim, o regulamento REACH estabelece a política de enquadramento das substâncias químicas em vigor na União Europeia e o regulamento CLP debruça-se sobre os perigos das substâncias e misturas químicas, através da análise dos pictogramas e também sobre como informar terceiros sobre os mesmos.

De seguida, vou realizar a análise SWOT sobre o estágio.

### 3. Análise SWOT

Tabela 2- Análise SWOT.

<b>Forças</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Equipa da empresa</li><li>• Desenvolvimento de competências informáticas</li><li>• Trabalho em equipa</li><li>• Autonomia na realização de trabalhos</li></ul>	<b>Oportunidades</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Formações constantes</li></ul>
<b>Fraquezas</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Duração reduzida do estágio</li><li>• Modalidade de teletrabalho</li></ul>	<b>Ameaças</b> <ul style="list-style-type: none"><li>•</li></ul>

#### 3.1. Forças (Strengths)

##### 3.1.1. Equipa da empresa

A equipa com que trabalhei foi bastante dinâmica e esteve sempre disposta a ajudar quando tínhamos algumas dificuldades. Gostei do espírito de equipa, apesar de trabalharmos à distância.

##### 3.1.2. Desenvolvimento de competências informáticas

No estágio utilizámos o Microsoft Teams que nos permitiu adquirir novas competências informáticas, pois foi a primeira vez que utilizei esse programa. Além disso, usámos bastante o Word, o qual foi extremamente útil para aperfeiçoar e aprender novas ferramentas. Também é importante acrescentar que a realização dos PIFs e de trabalhos de pesquisa e

resumo de artigos incrementou a minha capacidade de pesquisa, síntese e também de escrita científica.

### **3.1.3. Trabalho em equipa**

O trabalho em equipa foi um ponto positivo para mim pois proporcionou um constante diálogo e troca de ideias com as minhas colegas estagiárias para a resolução de alguns trabalhos. Além disto, nos dias de hoje, é uma *skill* essencial para o nosso futuro profissional.

### **3.1.4. Diversidade de tarefas realizadas**

O facto de, ao longo do estágio, ter passado por todas as áreas (cosméticos, dispositivos médicos e suplementos alimentares) permitiu ter uma visão geral do tipo de trabalhos realizados na empresa, e ter uma ideia das áreas que gostamos mais e que são mais favoráveis para nós. No entanto, não houve tanto tempo para nos especializarmos em cada uma das áreas, sobretudo a área dos dispositivos médicos como referi anteriormente.

### **3.1.5. Autonomia na realização de trabalhos**

Os membros da equipa concederam-nos liberdade para realizar algumas tarefas ao nosso ritmo, o que foi bom para ir ganhando autonomia na realização das mesmas e realizá-las com calma e sem pressão.

## **3.2. Fraquezas (*Weaknesses*)**

### **3.2.1. Duração reduzida do estágio**

O estágio teve a duração de 3 meses, o que acaba por ser pouco tempo para ganhar experiência e estar à vontade na realização de trabalhos mais morosos e trabalhosos como o PIF. Considero que esse período não foi suficiente para a aprendizagem e para aplicar os conhecimentos adquiridos na teoria. Além disso, não houve tempo para abordar todas as áreas com a mesma profundidade. No entanto, tentei aproveitar ao máximo o tempo que estive a estagiar.

### **3.2.2. Modalidade de teletrabalho**

A modalidade de 100 % de teletrabalho, apesar de apresentar algumas vantagens, foi uma desvantagem para mim porque não tive oportunidade de ir à sede da empresa presencialmente nem de conhecer bem os membros da equipa e também não nos confere uma ideia realista das instalações que uma empresa de auditoria dispõe. Além disso, colocou-nos numa situação de isolamento que não é um ambiente propício para aprender e torna mais difícil o

esclarecimento de dúvidas. Além disso, não há um acompanhamento tão próximo ao estagiário como acontece nos regimes presenciais e mistos e a aprendizagem adquirida poderá ser mais superficial. Também é importante destacar que trabalhar muito tempo à frente de um ecrã não é muito saudável e é sedentário.

### **3.3. Oportunidades (*Opportunities*)**

#### **3.3.1. Formações**

As formações que recebemos na empresa, nomeadamente nas áreas dos cosméticos e suplementos alimentares foram extremamente úteis para complementar e aprofundar algumas matérias lecionadas na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. Por exemplo, no meu caso, na Faculdade tínhamos abordado na disciplina de Dermocosmética como fazer um PIF, mas naquela altura não cheguei a perceber bem como se fazia. Sinto que este estágio ajudou-me a consolidar certos conhecimentos e a entender melhor e com mais calma como fazer um PIF e também a que fontes de informação aceder na realização desse trabalho. Além disso, fiquei com uma ideia mais clara em relação à área dos assuntos regulamentares, que também tinha sido desenvolvida na disciplina de Assuntos Regulamentares.

### **3.4. Ameaças (*Threats*)**

A duração reduzida do estágio e a sua modalidade não me permitiram tirar conclusões acerca de possíveis ameaças.

## **4. Conclusão**

Considero que o estágio realizado na empresa Basepoint foi benéfico, interessante e abrangente. Sinto que as diversas formações realizadas complementaram bem a matéria lecionada nas aulas de Dermocosmética e de Assuntos Regulamentares da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e, juntamente com os trabalhos realizados, prepararam-me bem para o meu futuro profissional.

Gostaria de mencionar que o trabalho sobre o PIF tornou-se mais moroso. Contudo, foi muito importante para a minha formação uma vez que permitiu melhorar a minha escrita científica e aprender a resumir o que é mais importante, e avaliar se um produto pode ser lançado no mercado ou se é pouco seguro para os consumidores.

Foi igualmente positivo ter experienciado uma nova área, para além da Farmácia Comunitária. Com esta experiência, fiquei a saber qual o tipo de trabalho realizado numa empresa de consultoria. Considero que foi uma boa forma de terminar o meu EC.



Por fim, gostaria ainda de agradecer aos membros da equipa pelo apoio, ensinamentos, formações apresentadas e esclarecimento de dúvidas.

## 5. Referências bibliográficas

Europeu, P., Jo, J. O., & Jo, J. O. (2011). L 304/18. 2011, 18–63.

Cosm, P. (2019). *Rotulagem Cosméticos*.

Produtos, A. E. M. (2017). *Alegações em produtos cosméticos*.

Bernauer, U., Bodin, L., Chaudhry, Q., Coenraads, P. J., Dusinska, M., Ezendam, J., Gaffet, E., Galli, C. L., Granum, B., Panteri, E., Rogiers rapporteur, V., Rousselle, C., Stepnik, M., Vanhaecke, T., Wijnhoven, S., Koutsodimou, A., Uter, W., & von Goetz, N. (2021). The SCCS Notes of Guidance for the testing of cosmetic ingredients and their safety evaluation, 11th revision, 30–31 March 2021, SCCS/1628/21. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, 127(March), 105052. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2021.105052>.

# **CAPÍTULO III**

## **Monografia**

**“Papel do ácido cólico na síndrome de Zellweger”**

## Resumo

A síndrome de Zellweger (ZS) é uma patologia rara que afeta os peroxissomas. Não apresenta cura, sendo que ainda não é totalmente conhecida e o seu tratamento é bastante limitado. Trata-se de uma doença que afeta recém-nascidos e crianças até 1 ano de idade, levando na maior parte das vezes à sua morte. Face ao exposto, entendemos ser relevante a abordagem desta temática porque é uma matéria que ainda está em desenvolvimento, suscita algumas dúvidas, além de ser bastante interessante, pertinente e importante para ser explorada, e mesmo para a comunidade estar a par desta patologia.

Esta monografia tem como objetivo investigar e descrever a ZS, e caracterizar as estratégias terapêuticas para a tratar ou minimizar.

Inicialmente, será abordada a epidemiologia da ZS, onde se discutirá a sua incidência e prevalência. Posteriormente, serão apresentadas 3 manifestações clínicas da doença e caracterização dos respetivos sintomas. Neste seguimento serão descritas as estratégias terapêuticas envolvidas, focando no tratamento sintomático e medidas de suporte (*supportive care*).

Aqui, será descrito o mecanismo de ação do ácido cólico, um composto que está envolvido no tratamento da ZS, onde serão abordados os diferentes processos envolvidos na fisiopatologia da doença e a atuação do ácido cólico na prevenção desses processos.

Neste sentido, serão descritas as análises laboratoriais bem como os exames realizados para diagnosticar a ZS. Aqui, vai-se explorar um dos tratamentos que se encontra atualmente disponível- a Terapia *Cholbam*, contudo este tratamento ainda se encontra em estudo uma vez que nem sempre é 100% eficaz e pode não obter resultados nalguns casos práticos.

Por fim, serão abordadas de forma breve as perspetivas futuras em relação a possíveis tratamentos que possam surgir.

**Palavras – chave:** Síndrome de Zellweger, peroxissomas, ácido cólico, *Cholbam*, triagem

## **Abstract**

Zellweger syndrome (ZS) is a rare pathology that affects peroxisomes. There is no cure, it is not yet fully known, and its treatment is quite limited. ZS is a disease that affects newborns and children up to 1 year of age, most often leading to death. Hence, we believe that the approach to this topic is relevant because it is a subject that is still in development, raises some doubts, in addition to being quite interesting, pertinent and important to be explored and even for the community to be aware of this pathology.

This monograph aims to investigate and describe ZS and characterize therapeutic strategies to treat or minimize it.

Firstly, the epidemiology of ZS will be addressed, where its incidence and prevalence will be discussed. Then, 3 clinical manifestations of the disease and characterization of the respective symptoms will be presented. In this section, the therapeutic strategies involved will be described, focusing on symptomatic treatment and supportive care.

Here, the mechanism of action of cholic acid, a compound that is involved in the treatment of ZS will be described, covering the different processes involved in the pathophysiology of the disease and the role of cholic acid in preventing these processes.

In this sense, laboratory analyzes will be described as well as the tests carried out to diagnose ZS. Here, we will explore one of the treatments that is currently available - Cholbam therapy, however this treatment is still under study as it is not always 100% effective and may not achieve results in some practical cases.

Finally, it will be talked about some future perspectives about possible treatments that may emerge.

**Keywords:** Zellweger Syndrome, peroxisomes, Cholic acid, Cholbam, screening

## Lista de abreviaturas

ACOX2 - *Branched-chain acyl-coA-oxidase*

ACTH - *Adrenocorticotropic hormone*

ALT - Alanina aminotransferase

AMACR - *alfa-Methylacyl-coA racemase*

AST - Aspartato aminotransferase

ATM - *Ataxia-telangiectasia mutated*

ATP - Adenosina trifosfato

BASD - *Bile acid synthesis disorder*

BHE - Barreira hematoencefálica

CA - *Cholic Acid*

CDCA - *Chenodeoxycholic Acid*

DBP- *D-bifunctional protein dehydrogenase*

DHCA - *Di-hydroxycoprostanic acid*

EUA - Estados Unidos da América

FAB - *Fast atom bombardment–mass spectrometry*

FDA - *Food and Drug Administration*

HNRNPA I - Ribonucleoproteína A I

IRD - *Infantile Refsum Disease*

LC-MS/MS - *Liquid Chromatography/ Mass Spectrometry*

NAC - N-acetil cisteína

NALD - Adrenoleucodistrofia neonatal

PBD - *Peroxisomal Biogenesis Disorder*

PGD - Diagnóstico genético pré-plantação

RM - Ressonância Magnética

ROS - *Reactive Oxidative Species*

SCP-x - *Sterol carrier protein X*

SED - *Single enzyme disorders*

SNC - Sistema Nervoso Central

TEAE - Eventos adversos emergentes de tratamento

THCA - *Tri-hydroxycoprostanic acid*

VLCFA - Ácidos gordos de cadeia muito longa

VLC-PUFA - *Very long chain polyunsaturated fatty acids*

X-ALD - Adrenoleucodistrofia ligada ao cromossoma X

ZS - Síndrome de Zellweger

ZSD - Distúrbios do espectro de Zellweger

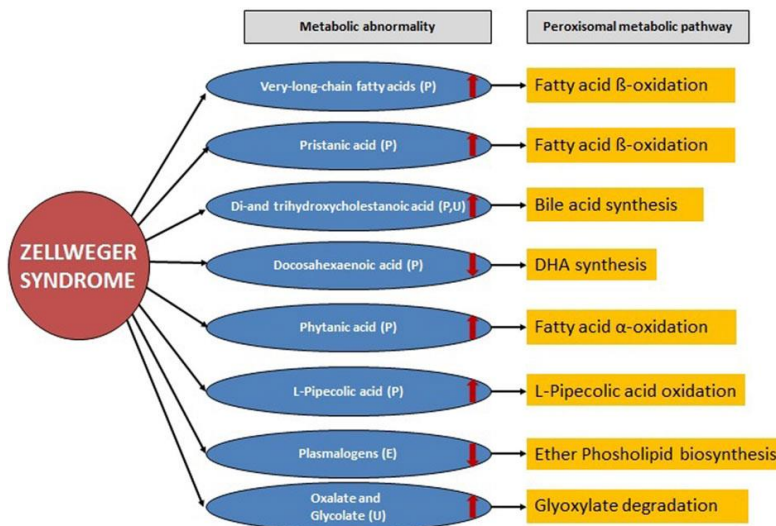
# I. Introdução à síndrome de Zellweger

Os ZSDs são um grupo heterogêneo e raro de distúrbios hereditários autossômicos recessivos caracterizados por um número reduzido de peroxissomas devido a problemas na síntese e/ou funcionamento defeituoso, sendo caracterizados como leucodistrofias (Berendse *et al.*, 2016). Na ausência de peroxissomas funcionais, a síntese de ácidos biliares é interrompida e a doença multissistêmica ocorre com anormalidades no cérebro, fígado, rins, músculos, olhos, ouvidos e sistema nervoso. Deste conjunto de distúrbios, fazem parte o ZS, a forma mais grave, o NALD, que é menos grave que a SZ, a IRD, que é menos grave que a ZS e a NALD, e a síndrome de Heimler, que é a forma mais leve (Braverman *et.al*, 2016). Nesta monografia, vou-me debruçar sobre a ZS.

A ZS é caracterizada por várias mutações em 1 de 13 diferentes genes PEX (Rydzanicz *et al.*, 2017), que ocorrem essencialmente nas células do cérebro, fígado, rins, músculos, olhos, ouvidos e sistema nervoso (Braverman *et.al*, 2016).

A ZS é uma síndrome rara que ainda não é totalmente conhecida e, cujo tratamento ainda é bastante limitado. Assim, é importante investir na investigação acerca desta doença e das estratégias terapêuticas para a tratar ou minimizar.

## I.1 Etiologia



**Figura 1** - A síndrome de Zellweger e seu importante papel na identificação das diferentes funções metabólicas dos peroxissomas em humanos deduzido das anormalidades metabólicas descobertas ao longo dos anos – adaptado de Wanders *et al.*, 2018.

A ZS é causada por mutações genéticas, que desencadeiam erros no metabolismo dos peroxissomas.



Os peroxissomas estão envolvidos nos seguintes processos: alfa e beta oxidação de ácidos gordos de cadeia longa e ramificada e ácidos gordos dicarboxílicos, oxidação do ácido L-pipecólico, biossíntese de plasmalogénios (família única de glicerofosfolípidos da membrana celular que contém uma ligação vinil-éter) e ácidos biliares e destoxificação do glioxilato e ROS (Fig.1). Nesta doença, ocorre a acumulação de intermediários do ácido biliar (DHCA e THCA) que atravessam a BHE, causando lesões no SNC. No entanto, ainda não se sabe bem o processo através do qual estes passam pela barreira. Os intermediários C27 do ácido biliar são tóxicos e acredita-se que contribuam para a doença hepática, no entanto, um papel para outras anormalidades bioquímicas neste processo não pode ser descartado (Berendse *et.al*, 2016).

Variantes patogénicas dos genes PEX, que codificam peroxinas, proteínas responsáveis pela função peroxissomal, incluindo biogénese de membrana, importação de proteínas da matriz e proliferação de peroxissomas, podem desencadear disfunção peroxissomal. Dos 16 genes identificados em humanos, existem 13 nos quais já foram detetadas mutações, as variantes 1,2,3, 5, 6, 10, 12, 13, 14, 16, 19 e 26 (Wanders *et al.*, 2018). A ZS é mais frequentemente causada por mutações nos genes PEX1 (dois terços dos casos) e PEX6; sendo que a PEX5 foi a mutação mais comum num estudo coorte do Médio Oriente. Uma mutação PEX específica não pode ser prevista em testes bioquímicos realizados em amostras de soro (Shaheen R. *et.al*, 2011).

Embora os distúrbios dos ácidos gordos mitocondriais estejam incluídos no *screening* neonatal, distúrbios do peroxissoma não o são. O teste de triagem apropriado para uma criança com suspeita de ZS é uma medição dos níveis de VLCFA no plasma. Concentrações plasmáticas elevadas dos seguintes VLCFAs:ácido hexacosanóico (designado C26:0 para uma cadeia de 26 carbonos totalmente saturada), o ácido hexacosanóico monoinsaturado (C26:1) e ácido tetracosanóico, são indicadores de doença peroxissomal (Grayer *et.al*, 2005).

## **1.2. Epidemiologia**

A ZS que faz parte deste conjunto de distúrbios, também designada por síndrome cérebro-hepato-renal tem uma incidência de, aproximadamente 1 para 50000 até 1 para 1000000. Especificando um pouco, os ZSD ocorrem em todo o mundo, variando entre regiões. Por exemplo, a incidência de Desordens do Espectro de Zellweger foi estimada como sendo 1 em 50.000 recém-nascidos nos Estados Unidos (Gould S. *et. al*, 2001). Por exemplo, a incidência da síndrome de Zellweger (clássica) na região franco-canadiano do Quebec foi estimada como sendo 1 em 12 (Levesque S. *et.al*, 2012). Uma incidência muito menor relatada no Japão, com

uma estimativa incidência de 1 em 500.000 nascimentos (Shimozawa N. *et.al*, 2003). Dados de incidência mais precisos irão estar disponíveis num futuro próximo, uma vez que a triagem neonatal para a X-ALD vai começar a ser implementada em inúmeros países. O método de triagem é baseado no C26:0-lisofosfatidilcolina (C26:0-lysoPC) em manchas de sangue secas usando a tecnologia LC-MS/MS, que também identificará ZSD (Hubbard WC *et.al*, 2009).

### **1.3. Caracterização clínica**

Existem 3 formas de apresentação da ZS: a forma neonatal – infantil, a forma da infância e a forma adolescente – adulta. Dentro destas 3, a severidade da doença é maior no período neonatal, podendo mesmo levar à morte no primeiro ano de vida, nas formas mais graves de doença (Wanders *et al.*, 2018). É muito importante realçar que a sintomatologia típica neste tipo de pacientes é difícil de descrever devido à severidade e variabilidade da apresentação da doença e devido à heterogeneidade da doença.

Os sintomas de ZS geralmente manifestam-se logo após o nascimento. Anormalidades faciais relacionado ao ZS envolvem ponte nasal larga, rosto achatado, testa alta, dobras epicânticas, (dobras cutâneas localizadas na parte interna dos cantos dos olhos), crista da sobrancelha subdesenvolvida e olhos arregalados. Recursos adicionais incluem alimentação problemática, fígado e/ou baço aumentados, problemas de audição e visão, sangramento gastrointestinal, icterícia (tonalidade amarelada da pele relacionada à disfunção hepática), convulsões, subdesenvolvimento dos músculos e dificuldade de movimento (*Zellweger Spectrum Disorders*, 2022). Além disto, anormalidades oculares ocorrem com frequência e incluem cataratas, glaucoma e turvação da córnea. Cistos renais corticais são observáveis no ultrassom. Condrodisplasia *punctata*, especialmente nos joelhos e cintura, foi identificada em raios X esqueléticos. Malformações cardiovasculares e hipoplasia pulmonar também foram registados. (Wanders *et al.*, 2018). Para ser mais sucinto, os sintomas mais comuns incluem fígado aumentado, níveis elevados de ferro e cobre no sangue e distúrbios visuais (Radwan, 2021).

Ainda é amplamente desconhecido quais anormalidades bioquímicas, isoladamente ou em combinação, desencadeiam as manifestações clínicas individuais, embora algumas correlações tenham sido levantadas. Os intermediários dos ácidos biliares C27 são tóxicos e contribuem para lesão hepática, no entanto, um papel para outras anormalidades bioquímicas não pode ser descartado (Klouwer *et al.*, 2019).

## **2. Estratégias terapêuticas para a síndrome de Zellweger**

A ZS é uma doença que não tem cura (Klouwer *et. al*, 2015).

Atualmente, o tratamento foca – se principalmente em terapias sintomáticas e cuidados de suporte (*supportive care*), ou seja, o principal objetivo é otimizar a qualidade de vida dos utentes (Grayer J. *et.al*, 2005) Todos os pacientes com ZSD precisam ser examinados para insuficiência, epilepsia, baixos níveis de vitaminas lipossolúveis, coagulopatia parcialmente dependente de vitamina K, altos níveis de ácido fitânico, deficiência auditiva ou visual e hipoplasia do esmalte. Eles devem ser tratados de acordo com as anormalidades e/ou uma dieta com restrição em ácido fitânico (Klouwer *et al.*, 2015).

A suplementação com vitaminas lipossolúveis como as vitaminas A, D, E e K é recomendada dado que muitos pacientes experienciam má absorção lipídica. Muitos pacientes com ZS precisarão da colocação do tubo da gastrostomia e a anestesia cirúrgica pode ser administrada com segurança apesar da hipotonia (Grayer *et.al*, 2005; Platis CM *et.al* ,2006). A ZS está associada com colestase e lesão hepática que pode ser melhorado pela reposição oral de ácidos biliares. Pacientes com ZS com mais de 12 meses de idade devem ser monitorizados para oxalúria e nefrolitíase resultante, que pode levar a insuficiência renal (Gould SJ *et.al*, 2001). Como a maioria dos pacientes poderão ter insuficiência adrenal, é recomendado realizarem um teste de estimulação ACTH para avaliar a função adrenocortical. Caso se verifique insuficiência adrenal, deve ser implementada uma suplementação diária de corticóides com uma dose aumentada em momentos de doença aguda e stress cirúrgico (Woodcock T. *et al.*, 2020).

É importante que haja uma avaliação da função hepática, renal e de coagulação para saber o grau de evolução da doença.

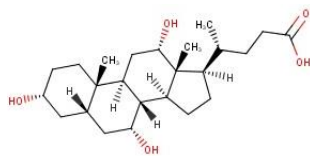
A Terapia com CA (*Cholbam*) é a única terapia aprovada pelo FDA dos Estados Unidos para o tratamento de ZSDs tanto em pacientes pediátricos como adultos que exibem doença hepática, esteatorreia e complicações decorrentes da reduzida absorção de vitaminas lipossolúveis (Berendse *et al.*, 2016).

### **3. Mecanismo de ação do ácido cólico: relevância dos peroxissomas e o seu papel na biossíntese de ácidos biliares a partir do colesterol no fígado**

A suplementação com CA, um ácido biliar primário, foi sugerido como uma terapia potencial para pacientes com um ZSD, uma vez que o CA reprime o primeiro passo da biossíntese de ácidos biliares através da via principal, levando a níveis reduzidos de intermediários tóxicos do

ácido biliar C27 (Berendse *et.al.*, 2016). Além disso, foi levantada a hipótese de que a terapia com CA, leva a uma melhor solubilização de gorduras dietéticas e vitaminas lipossolúveis, causando uma redução de esteatorreia, aumento dos níveis de vitaminas lipossolúveis e crescimento melhorado. A *downregulation* da síntese de ácidos biliares com redução nos níveis de intermediários C27-ácido biliar durante a terapia com CA tem uma base científica sólida, tendo sido comprovada pela primeira vez há mais de 20 anos numa criança com ZSD grave e demonstrada mais recentemente em pacientes ZSD após o tratamento com CA por 9 meses e durante a terapia de AC de longo prazo. Por esta razão, é crucial falar do papel deste ácido na ZS, dado ser o composto com maior relevância na terapêutica da síndrome. Todavia, há que realçar que a terapia com CA destina-se a atuar na etapa de formação dos ácidos biliares tóxicos, mas não atua na acumulação de VLCFAs e dos ácidos fitânico, pristânico e pipecólico, nem na diminuição da produção de plasmalogénios. Pode-se concluir que o CA não aborda todos os fundamentos bioquímicos de PBD-ZSD, e não resolve os problemas inerentes à causa genética da doença (Berendse *et al.*, 2016).

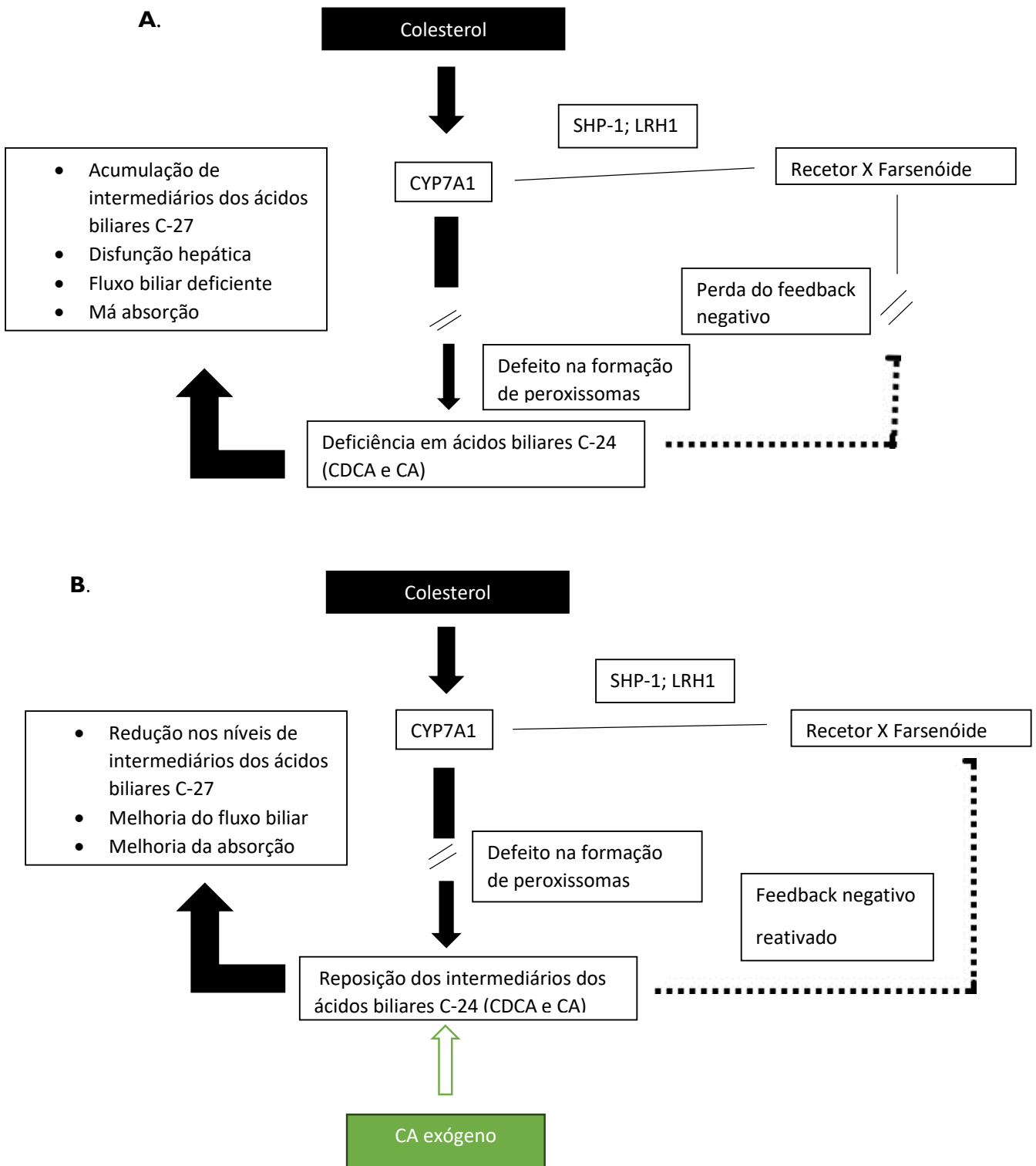
## CA



**Figura 2** - Estrutura do ácido cólico

O CA é um ácido biliar de 24 carbonos (Fig.2), que é útil na absorção de vitaminas lipossolúveis (Keane MH *et.al.*, 2007). Devido à disfunção hepática e comprometimento da síntese de lipoproteínas em pacientes com ZS, há uma deficiência de vitaminas lipossolúveis, e o uso de CA tem sido usado noutros distúrbios da função hepática. Foi aprovado pelo FDA dos EUA para uso em pacientes com ZS. No entanto, há poucas evidências sobre sua eficácia (Klouwer *et al.*, 2015).

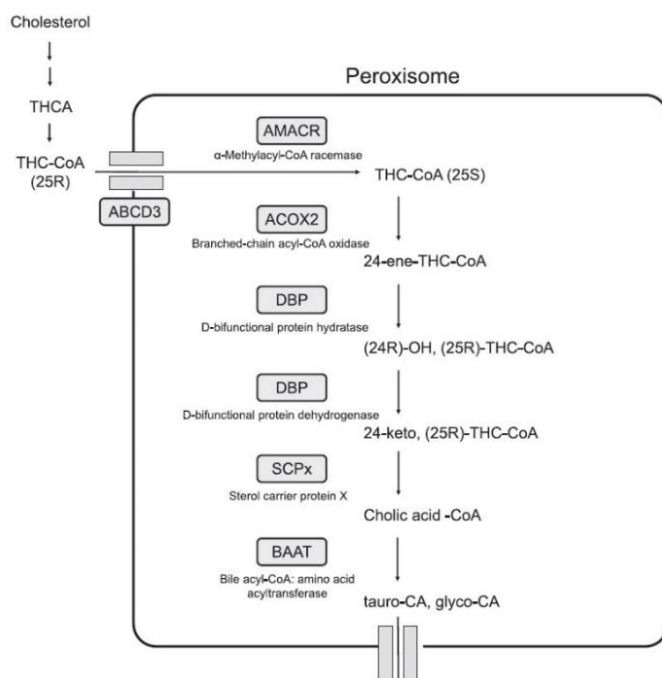
Como se pode ver através da Figura 3, a deficiência de peroxissomas causa défice de ácidos biliares C24 primários, o que leva a uma inibição do feedback negativo que controla a homeostase dos ácidos biliares.



**Figura 3** – A) Défice na síntese de ácidos biliare em paciente com ZSD. B) Mecanismo do CA em paciente com ZSD, adaptado de Anderson et.al, 2021

Os ácidos biliare são sintetizados nos hepatócitos a partir do colesterol e do 24-hidroxicolesterol derivado do cérebro. Após a modificação do anel esteróide do colesterol e

clivagem oxidativa da cadeia lateral, estes são finalmente conjugados com glicina ou taurina e secretados. Os peroxissomas são responsáveis pela clivagem da cadeia lateral por  $\beta$ -oxidação, na qual AMACR, ACOX2, DBP e SCPx metabolizam os ésteres de CoA de intermediários de ácidos biliares, como o ácido 3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -THCA e o ácido 3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ -DHCA, em ácidos biliares primários, como o CA e o CDCA, respectivamente. Além disso, ABCD3 é um transportador envolvido na passagem dos ésteres CoA dos intermediários dos ácidos biliares através da membrana do peroxissoma. A acumulação de THCA/DHCA foi observada em pacientes com falta dessas enzimas. Basicamente, nesta situação, o THCA e DHCA até podem atravessar a membrana do peroxissoma, mas na ausência destas enzimas não são transformados e acabam por se acumular dentro do peroxissoma (Kawai *et al.*, 2023). A sua biossíntese pode ser comprovada através da Fig.4.



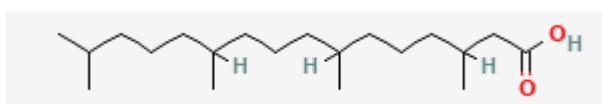
**Figura 4** - Biossíntese dos ácidos biliares, adaptado de Kawai *et al.*, 2023.

Além disso, ocorre a formação de intermediários dos ácidos biliares, que são citotóxicos (devido à transcrição aumentada de CYP7A1). A deficiência em ácidos biliares primários causa comprometimento do fluxo biliar e colestase, bem como absorção reduzida de gorduras dietéticas e vitaminas lipossolúveis. A introdução de CA exógeno restaura os níveis dos ácidos biliares primários, melhora o fluxo e a absorção biliar e reativa o feedback negativo, que, por meio da repressão do CYP7A1, reduz os níveis dos intermediários dos ácidos biliares C27 (Kawai *et al.*, 2021).

A tabela 3 apresenta os alimentos que podem ou não ser consumidos.

**Tabela 3** - Alimentos recomendados e de evitar na ZS- adaptado de Khadpe et al., 2019.

Sem ácido fitânico- alimentos recomendados	Alto conteúdo em ácido fitânico – Alimentos não recomendados
Fruta, cereais e vegetais	Peixe
Óleos de girassol e de cártamo	Todos os produtos derivados do leite
Carne de porco ou aves	Bife, refeições de coelho, produtos derivados da ovelha e cabra
Leite da mama (especialmente de mães que consumam peixe para ter DHA)	



**Figura 5** - Estrutura do ácido fitânico

É oportuno salientar que cortar em precursores de VLCFA não tem assim tanto benefício devido à produção endógena de VLCFA, mas, na minha opinião, pode ajudar a amenizar os sintomas.

Como foi referido anteriormente, a ZS é uma doença que não tem cura. O seu tratamento deve ter como objetivo principal otimizar a qualidade de vida dos pacientes. Para isso, devem ter atendimento interprofissional com uma equipa multidisciplinar constituída por especialistas em doenças metabólicas, neurologia, oftalmologia, otorrinolaringologia, terapeuta ocupacional e fisioterapeuta com acompanhamento adequado antes da alta hospitalar. Isto é extremamente importante, uma vez que a ZS afeta vários órgãos. Além disso, a integração de recursos paliativos desempenha um papel fundamental na melhoria da qualidade de vida de bebés e pais. É de salientar que o aconselhamento genético é fundamental para o diagnóstico precoce. Além disso, os pacientes irão ter necessidades dietéticas especiais e dificuldades na alimentação. Há certas dietas como a dieta cetogénica, que se tornam arriscadas porque vão aumentar os níveis de VLCFA (Grayer et.al, 2005). Além disso, uma dieta restrita em ácido fitânico só é necessária quando os níveis de ácido fitânico são extremamente altos e não são recomendados quando os níveis aumentam moderadamente, à medida que a ingestão suficiente de calorias é mais decisiva (Lertsirivorakul J. et.al, 2012). A tabela 3, apresentada em cima, apresenta os alimentos que podem ou não ser consumidos/integrados na dieta do paciente.

As análises laboratoriais em que se assenta a síndrome são concentrações altas de VLCFA no plasma, intermediários dos ácidos biliares, DHCA e THCA, e dos ácidos fitânico, pristânico e

pipecólico no sangue; baixas concentrações de plasmalogénio nos eritrócitos (Berendse *et al.*, 2016) e altas concentrações de ácidos biliares e ácido pipecólico na urina. O método de triagem mais comum, com base nas análises laboratoriais, é a deteção de níveis elevados de VLCFA no sangue (Grayer *et.al*, 2005).

São conhecidas duas características fulcrais dos peroxissomas: as peroxinas acumulam-se nas mitocôndrias em células derivadas de pacientes com ZS e as proteínas peroxissomais acumulam-se nas mitocôndrias na ausência de peroxissomas. O método de triagem mais comum é a deteção de níveis elevados de VLCFA no sangue. Portanto, antes de mais, como a maioria dos pacientes morre na infância, deve ser realizado um diagnóstico pré-natal. Para isso, podemos recorrer a testes de imagiologia como a RM do cérebro e a ultrassonografia abdominal. A RM do cérebro pode mostrar várias alterações, incluindo displasia neocortical, alterações da mielinização, alteração dos padrões corticais, diminuição do volume da substância branca, dilatação ventricular bilateral e quistos germinolíticos (Kawai *et al.*, 2023).

A Ultrassonografia abdominal evidencia hepatomegalia e/ou quistos renais. Os Testes de processos relacionados com os peroxissomas, em fibroblastos de pele cultivados, ajudam a confirmar o diagnóstico. O Teste genético identifica o defeito molecular específico para confirmar o diagnóstico. Sabe-se que estes tipos de testes estão disponíveis para os 12 genes causadores da doença. O diagnóstico *in utero*, por obtenção de amostra de vilosidades coriônicas, pode ser realizado se existir suspeita de distúrbio ou história familiar (Stanley Oiseth *et.al*, 2022).

Após a análise clínica da presença de ZSD, o passo seguinte envolve o teste bioquímico em amostras acessíveis como o sangue e urina. Este tipo de teste inclui a quantificação de VLCFA, os intermediários DHCA e THCA, os ácidos fitânico, pristânico e ácido pipecólico no plasma e níveis de plasmalogénios nos eritrócitos. Adicionalmente, ácidos biliares e oxálico podem ser analisados na urina. Se a suspeita de ZS for elevada e os parâmetros peroxissómicos no sangue e urina forem normais, é recomendado um teste em culturas de fibroblastos a 40 °C (Zeharia A *et.al*, 2007). Em alguns casos, podem se encontrar VLCFA atípicos em fibroblastos como por exemplo ultra-VLC-PUFA (Takashima S. *et.al*, 2021). Subsequentemente, é realizada a análise da mutação no gene PEX defeituoso em todos os pacientes para confirmar o diagnóstico (Kawai *et al.*, 2023).

Foi realizado um estudo relevante que demonstra a utilidade do PGD numa família afetada por uma mutação no gene PEX26. Este foi o primeiro relato de uma terapêutica bem-sucedida,



que levou ao nascimento de 4 bebês com ZS, sendo que um deles era homocigótico, e, com isto, o aborto poderá não ser necessário no futuro (Al-Sayed M *et.al*, 2007).

Mais recentemente, a avaliação do perfil proteico peroxissomal usando a espectrometria de massa foi realizada num tecido hepático humano. Embora a proteômica peroxissomal não seja uma técnica de diagnóstico padrão neste momento, esta tecnologia tem o potencial de fornecer mais informações sobre a química bio-peroxissomal (T.Gronemeyer *et al.*, 2013).

Está disponível um score de severidade para esta patologia, que usa uma escala de severidade de 3 pontos baseada em 14 domínios clínicos e validado em 30 pacientes com ZS. Um estudo recente afirma que os níveis de VLCFA poderão estar associados à idade de *onset/* início dos sintomas de ZS, mas nenhuma correlação direta foi reportada (Stradomska, T.J. *et.al*, 2020).

Aproximadamente 70% dos pacientes ZSD apresentam mutações bialélicas PEX1 e o p.G843D representa 40 % dos alelos PEX1, tendo sido identificados até agora 90 mutações neste gene (M.S. Ebberink *et.al*, 2011).

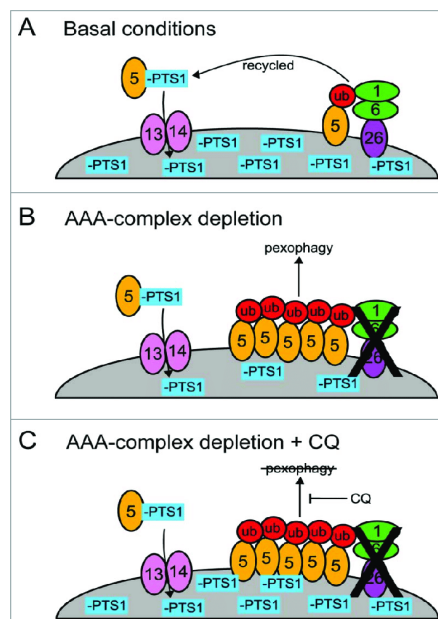
PEX1 é uma AAA-ATPase que oligomeriza com PEX6 e PEX26 e recicla PEX5 da membrana do peroxissoma para o citoplasma (Platta W.H *et.al*, 2008). Além disso, as proteínas da família AAA são um grupo de proteínas que utilizam a energia do ATP (por hidrólise) para remodelar complexos moleculares. PEX6 e PEX1 formam um anel hetero-hexamérico, melhor descrito como um trímero de dímeros PEX1/PEX6 fundamentais para importar proteínas da matriz e/ou para a fusão de vesículas. As proteínas importadas para os peroxissomas têm um motivo, conhecido como sinal de direcionamento peroxissomal-1 ou -2 (PTS1/-2), que são modulados pelos recetores dos peroxissomas (K.Germain *et.al*, 2020) Várias proteínas da matriz peroxissomal contêm uma sequência peroxissômica conservada (serina-lisina-leucina), conhecido como motivo PTS1, na extremidade C-terminal, que é reconhecida pelo recetor PEX5. Outras proteínas contêm um motivo PTS2 localizado no terminal amino, que são reconhecidas pelo recetor PEX7 (K. Germain *et. al*, 2020; o recetor PEX7 não está representado na imagem abaixo). Enquanto que o PEX5 é suficiente para o direcionamento de proteínas contendo PTS1 para o complexo de ancoragem peroxissomal seguido de importação para a matriz peroxissomal, PEX7 requer diferentes co-recetores, como o PEX18, para ser funcionalmente ativos que diferem consoante a espécie envolvida. Nem todas proteínas da matriz peroxissômica contêm um PTS1 ou PTS2. Pelo menos, algumas dessas proteínas contendo não-PTS1/não-PTS2 são importadas para peroxissomas através de um chamado mecanismo *piggyback* pelo qual a proteína é cotransportada junto com uma proteína que tem um PTS1- ou uma sequência PTS2. Após o encaixe dos 2 recetores carregados de carga

diferentes, as proteínas PTS1 e PTS2 devem ser translocadas através da membrana por intermédio do complexo de importação/*docking* PEX13-PEX14 para serem libertadas dentro dos peroxissomas. As proteínas PEX5 e PEX7 não carregadas são recicladas de volta para o citoplasma por meio do complexo PEX26-PEX1-PEX6. De forma importante, mecanismos estão prontos para reciclar proteínas desnecessárias, danificadas e/ou envelhecidas, bem como degradar todo o organelo por meio de um mecanismo chamado pexofagia (Wanders *et al.*, 2018), que será explicada mais à frente.

Por outro lado, a HNRNPAI está envolvida no controlo da degradação dos peroxissomas através da regulação da sequência-alvo peroxissomal (PTS2), que é regulada pelo recetor PEX7. Além disso, algumas proteínas têm um nonapeptídeo N-terminal ou interno. A perda do complexo AAA, que consiste na união dos genes PEX1, PEX6 e PEX26 é a mutação mais comum em doenças associadas aos peroxissomas como é o caso da ZS. A deleção do PEX1 promove pexofagia, causando a degradação dos peroxissomas (Enns *et al.*, 2021).

Como é causada esta deleção? Basicamente, a HNRNPAI liga-se ao fragmento 3' UTR do mRNA do PEX I, regulando a sua expressão. A depleção de HNRNPAI causa a *downregulation* do PEX I através da diminuição da expressão do *reporter* do mRNA, que leva à perda dos peroxissomas.

Nesta imagem de baixo (Fig.6), é possível perceber de uma maneira mais lúcida, o mecanismo da pexofagia e a disposição do complexo AAA.



**Figura 6**-Um modelo para a pexofagia AAA-dependente, adaptado de Enns *et al.*, 2021

De acordo com esta imagem, PEX5 liga-se a proteínas-alvo PTS1 do citoplasma e liberta na matriz peroxissômica. Em seguida, o PEX5 retorna ao citoplasma por retrotranslocação através do complexo ATPase do tipo AAA (Waterham R.W *et.al*, 2012). As modificações da ubiquitina controlam o ciclo de importação do PEX5. A mono-ubiquitinação de PEX5, causada pela enzima E2 (UBCH5), promove a reciclagem de PEX5, enquanto que o PEX5 poliubiquitinado é degradado (Wang W. *et.al*, 2017). Portanto, a perda do complexo peroxissomal AAA-ATPase desencadeia pexofagia por acumulação do PEX5 (Law B. K. *et.al*, 2017). Da mesma forma, descobrimos que a pexofagia era induzida pela regulação negativa de PEX1 em células com depleção de HNRNPA1. Além disso, foi descoberto que a depleção de HNRNPA1 aumenta significativamente os níveis de ROS peroxissomais em células HeLa (Fig.6). O aumento de ROS observado durante a depleção de HNRNPA1 diminui através do tratamento com NAC. É importante realçar que recentemente foi relatado que em resposta ao aumento de ROS, ATM fosforila PEX5, que subsequentemente induz a sua ubiquitinação, e o ubiquitinado PEX5 é ainda reconhecido por SQSTM1/p62, a proteína adaptadora de autofagia (Zhang J. *et.al*, 2015).

#### **4. Estudos clínicos com ácido cólico na síndrome de Zellweger**

##### **Estudo clínico I**

Neste primeiro estudo, resultados do maior estudo clínico até hoje investigando o uso de CA em pacientes com síntese de ácidos biliares levou à aprovação do FDA de *Cholbam*, um medicamento em forma de cápsulas contendo CA em março de 2015. Neste estudo de fase 3, não randomizado e não comparativo conduzido em pacientes com mais de 18 anos, a eficácia e a segurança do CA oral foram avaliadas em 70 pacientes com um único defeito enzimático (SED; n = 50) ou ZSD (n = 20). ZS (idade mediana, 6 anos) e NALD (idade mediana, 2 anos) foram os ZSDs mais comuns. Os pacientes receberam 10–15 mg/kg/dia de CA uma vez ao dia ou em doses divididas duas vezes ao dia como cápsulas despejadas em alimentos ou como uma formulação líquida (15 mg/mL) para pacientes que não conseguiam engolir cápsulas. A duração média do tratamento para pacientes no conjunto de segurança foi de 145 semanas (intervalo de 0 a 545 semanas). O tratamento com CA aumentou significativamente a excreção urinária de ácidos biliares e melhorou a química hepática com um aumento acentuado no número de pacientes SED e ZSD com ALT sérica e valores de AST abaixo do limite superior do normal (ULN) e uma diminuição acentuada no número com valores  $\geq 2$  vezes o ULN (P < 0,0001) (Anderson *et al.*, 2021).

A maioria dos pacientes com ZSD tinha níveis elevados de AST (77,8%) e ALT (59,3%) no início do estudo. Após o tratamento, 42,3% apresentaram níveis elevados de AST ( $P = 0,007$ ), e 11,1% tinham níveis elevados de ALT ( $P = 0,0003$ ), sugerindo uma redução nos marcadores bioquímicos de doença hepática. A bilirrubina direta sérica também significativamente melhorou os perfis de peso para ambos pacientes. ( $P = 0,006$ ) e aqueles com ZSD, com um aumento nos percentis de peso de pacientes com ZSD de 8,3% pré-tratamento para 25,6% pós-tratamento. Além disso, com exceção de fibrose em ponte, todos os parâmetros histológicos melhoraram com tratamento com CA, incluindo colestase, células gigantes e necrose. TEAEs foram predominantemente leves a moderados. Os autores concluíram que o CA administrado por via oral numa dosagem de 15 mg/kg/dia é um tratamento eficaz, seguro e bem tolerado para pacientes com um SED ou um ZS (Anderson *et al.*, 2021).

Uma continuação deste estudo foi realizada durante 6 anos para avaliar melhor a eficácia e segurança da terapia AC em pacientes com distúrbios na síntese do ácido biliar (Anderson *et al.*, 2021).

## **Estudo clínico 2**

Este estudo aberto de fase 3 demonstrou que o ácido cólico (10–15mg/kg/dia; tratamento médio duração de 145 semanas) foi um tratamento seguro, eficaz e bem tolerado para pacientes com distúrbios da síntese de ácidos biliares devido a SEDs e para pacientes ZSD com disfunção hepática (Heubi *et. al*, 2020).

Este estudo de fase 3, aberto e de braço único incluiu pacientes com BASD que recebeu ácido cólico (10–15mg/kg/dia) como parte de um estudo anterior, ou foram diagnosticados recentemente. Avaliações de eficácia incluíram ácidos biliares atípicos urinários; químicas do fígado sérico; peso corporal e altura. Eficácia e análises mostraram que o tratamento melhorou significativamente os scores das últimas características referidas.

Os pacientes elegíveis tinham diagnóstico de erro inatos da síntese de ácidos biliares como um SED ou ZSD. Pacientes que receberam ácido cólico como parte do estudo anterior e recentemente diagnosticados (*treatment-naïve*) eram elegíveis. O diagnóstico de erro inato da síntese de ácidos biliares foi confirmado com base na análise de espectrometria de massa FAB-MS.

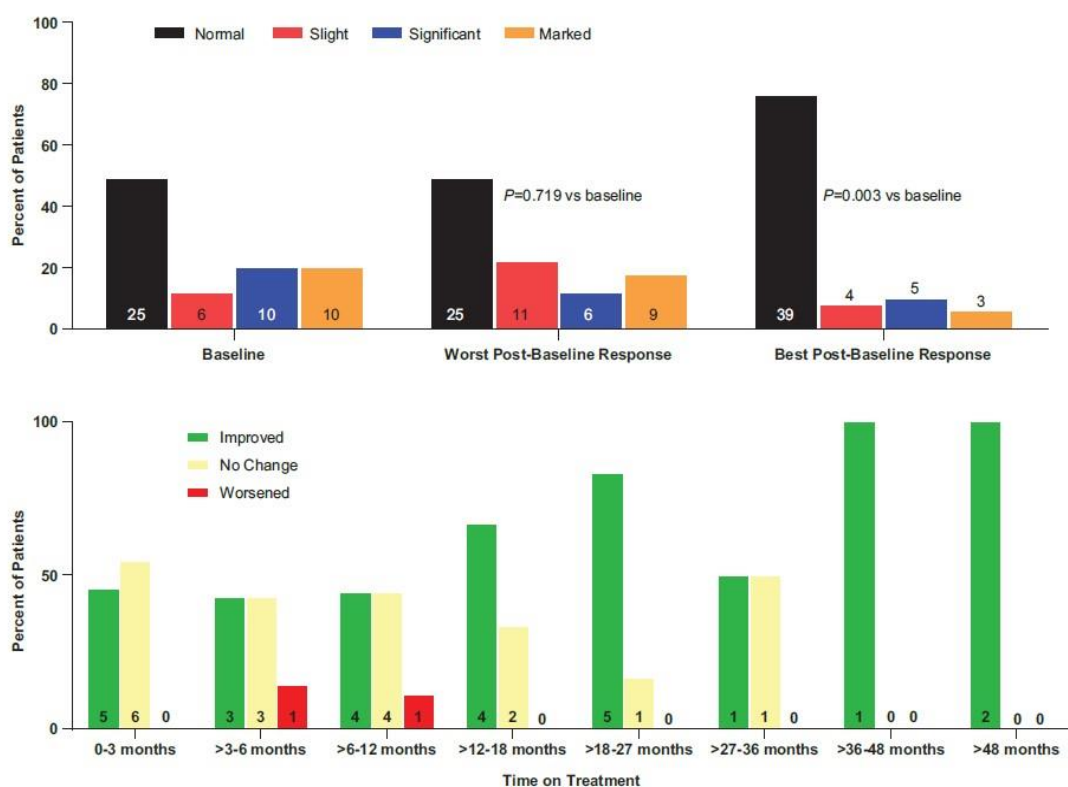
As análises de eficácia compararam a linha de base com a pior resposta pós-linha de base (primária) ou melhor resposta pós-basal (sensibilidade).

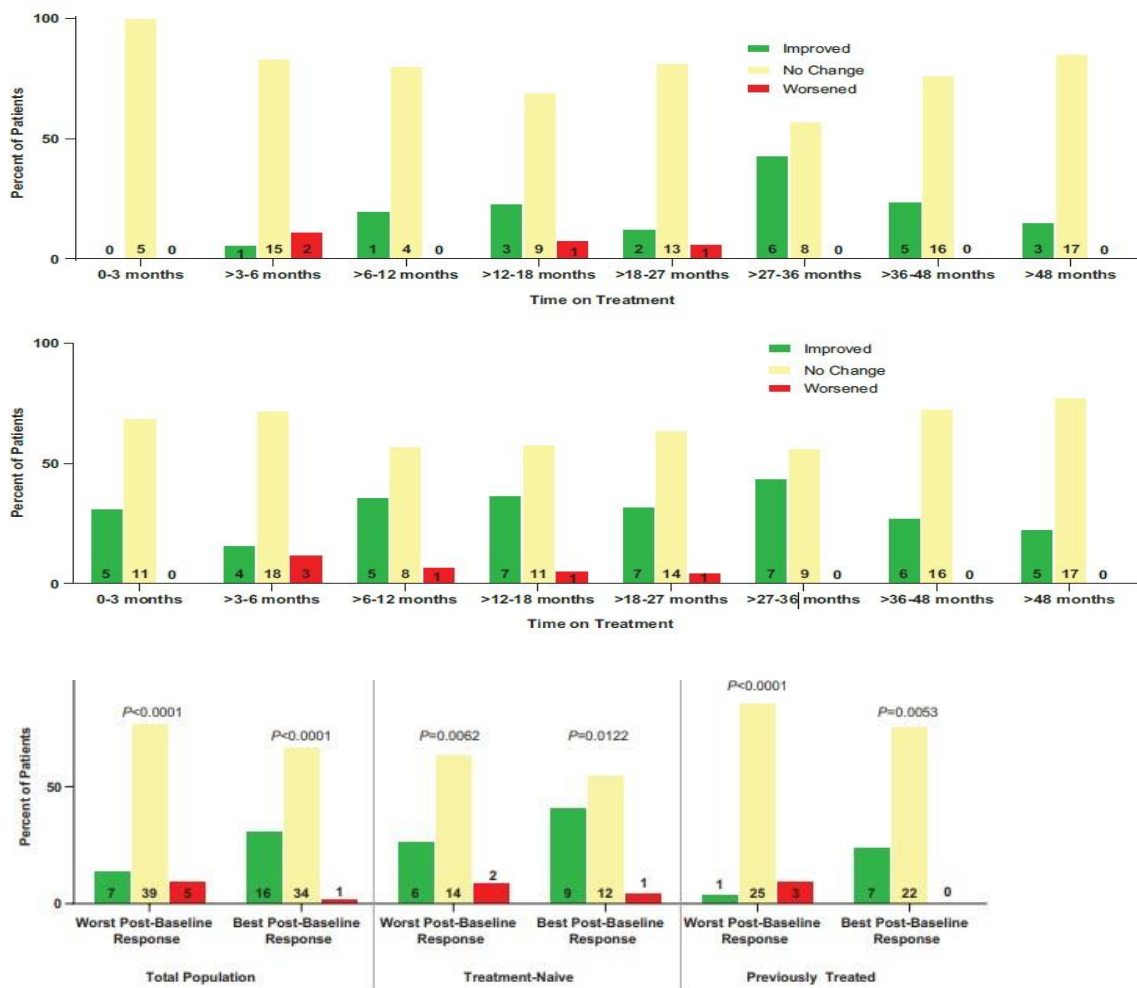
## Caracterização do estudo

Um total de 53 pacientes foram incluídos no estudo. Entre esses pacientes, 22 (42%) eram *treatment-naïve* e 31 (58%) estavam em ácido cólico de um estudo anterior. 41 pacientes (77%) tiveram SEDs; 12 (23%) tinham um ZSD. Os pacientes foram tratados com 15 mg/kg/dia de CA.

Na população total, nenhuma mudança estatisticamente significativa foi observada em análises da linha de base ao pior; reduções estatisticamente significativas foram observadas nas análises da linha de base para melhor. Com o tempo, a maioria dos pacientes melhorou ou estabilizou os níveis de ácidos biliares na urina.

O efeito do tratamento nas categorias de nível de ácido biliar urinário (ou seja, normal, leve, significativo, acentuado) também foi analisado com base nos *shifts* individuais dos pacientes entre as categorias da linha de base para a pós-linha de base, que foram classificadas como melhoradas, sem alterações ou pioradas. Por exemplo, um paciente com ácidos biliares urinários na categoria “leve” na linha de base, que então teve uma medição de “normal” pós-*baseline* foi classificado como tendo uma melhoria nos níveis de ácido biliar na urina, como se pode ver na Fig.7. Os resultados são apresentados ao longo do tempo durante um período de 48 semanas (Heubi *et. al*, 2020).





**Figura 7 - (A)** Ácidos biliares urinários no início do estudo, pior resposta pós-base e melhor resposta pós-base (população total); número e percentagem de pacientes nas populações (B) treatment-naïve, (C) tratadas anteriormente e (D) total por status ao longo do tempo; e (E) análise de deslocamento para a população total e status de tratamento. Os números dentro das barras indicam n valores, adaptado de Heubi & Setchell, 2020

A análise shift mostrou que na população total, e em pacientes treatment-naïve e previamente tratados, 90% dos pacientes melhoraram ou não tiveram alteração no estado.

Em pacientes treatment-naïve, uma redução da linha de base foi observada após o tratamento com CA, enquanto em pacientes previamente tratados, os níveis de AST e ALT permaneceram estáveis. Resultados semelhantes foram encontrados quando avaliados pelo nível absoluto de AST e ALT ao longo do tempo.

Na população total, diminuições estatisticamente significativas nos percentis médios de peso corporal foram observadas na análise da linha de base para pior; aumentos estatisticamente significativos na altura e percentis de peso corporal ( $P < 0,001$ ) foram vistos em análises da linha de base para melhor.

Portanto, fazendo um apanhado geral destes estudos, podemos afirmar que o CA é benéfico porque melhorou a função hepática através da redução dos valores das enzimas AST e ALT e da bilirrubina direta sérica para níveis normais e estáveis, incrementos nos percentis de peso e altura, estabilização/melhoria dos níveis dos ácidos biliares urinário, aumento dos FGF19 e redução dos níveis plasmáticos de C4. No entanto, é extremamente vital sublinhar que em caso de pacientes com cirrose e fibrose hepática severa o tratamento poderá não ser eficaz e, em situações de deterioração no estado, deve-se parar logo o tratamento. Nestes pacientes, a doença está tão avançada que o CA já não é eficaz.

Destes estudos, podemos tirar certas ilações como:

1 - Um período de tratamento de 21 meses poderá ser muito curto para concluir se o CA tem efeito na progressão do estudo clínico;

2 - A terapia com CA está associada a altura e peso aumentados, melhoria na função hepática e reduzida bilis atípica, no entanto poderá não ser eficaz em casos de pacientes com cirrose;

3 - O tratamento é aprovado em pacientes com ZS com manifestações de doença hepática, esteatorreia ou complicações resultantes de uma baixa absorção de vitaminas lipossolúveis;

4 - Nenhum dos observados efeitos secundários estavam relacionados com o CA;

5 - Os benefícios desta terapia não estão provados e efeitos secundários possíveis poderão afetar a decisão de continuar ou não com este tratamento (Heubi *et. al*, 2020).

## **5. Conclusões e perspectivas futuras**

Para concluir, em pacientes com ZSD, a terapia deve ser uma terapia de suporte para controlar os sintomas e melhorar a qualidade de vida. Estudos futuros, particularmente aqueles em pacientes com início precoce da terapia AC, são necessários para elucidar os efeitos do tratamento hepático e extra-hepático a longo prazo. Esses estudos ajudariam a estabelecer a durabilidade da terapia AC na manutenção da função hepática em pacientes com ZSD e pode determinar se existe um limite para quando o tratamento se tornar menos capaz de preservar a função. Além disso, estudos futuros devem ter como objetivo identificar se existe um subgrupo de pacientes com ZSD que mais beneficiariam da terapia CA em relação à idade e variação histológica e parâmetros bioquímicos no diagnóstico. Esperemos que num futuro próximo, mais estudos atualizados surjam e que seja possível encontrar a cura para esta síndrome.

## Referências bibliográficas

- Berendse, K., Boek, M., Gijbels, M., Van der Wel, N. N., Klouwer, F. C., van den Bergh-Weerman, M. A., Shinde, A. B., Ofman, R., Poll-The, B. T., Houten, S. M., Baes, M., Wanders, R. J. A., & Waterham, H. R. (2019). Liver disease predominates in a mouse model for mild human Zellweger spectrum disorder. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1865(10), 2774–2787. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2019.06.013>.
- Braverman NE, Raymond GV, Rizzo WB, et al. Peroxisome biogenesis disorders in the Zellweger spectrum: an overview of current diagnosis, clinical manifestations, and treatment guidelines. *Mol Genet Metab*. 2016;117(3):313–21.
- Rydzanicz, M., Stradomska, T. J., Jurkiewicz, E., Jamroz, E., Gasperowicz, P., Kostrzewa, G., Płoski, R., & Tylki-Szymańska, A. (2017). Mild Zellweger syndrome due to a novel PEX6 mutation: correlation between clinical phenotype and in silico prediction of variant pathogenicity. *Journal of Applied Genetics*, 58(4), 475–480. <https://doi.org/10.1007/s13353-017-0414-5>.
- Wanders, R. J. A., Vaz, F. M., Ferdinandusse, S., Kemp, S., Ebberink, M. S., & Waterham, H. R. (2018). Laboratory Diagnosis of Peroxisomal Disorders in the -Omics Era and the Continued Importance of Biomarkers and Biochemical Studies. *Journal of Inborn Errors of Metabolism and Screening*, 6, 1–16. <https://doi.org/10.1177/2326409818810285>.
- Shaheen R, Al-Dirbashi OY, Al-Hassnan ZN, et al. Clinical, biochemical and molecular characterization of peroxisomal diseases in Arabs. *Clin Genet* 2011;79:60–70.
- Grayer J. Recognition of Zellweger syndrome in infancy. *Adv Neonatal Care* 2005;5:5–13.
- Gould SJ, Raymond GV, Valle D. The peroxisome biogenesis disorders. In: Scriver CD, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. **New York: McGraw-Hill**; 2001: 3181–3218.
- Levesque S, Morin C, Guay S-P, Villeneuve J, Marquis P, Yik WY, et al. A founder mutation in the PEX6 gene is responsible for increased incidence of Zellweger syndrome in a French Canadian population. *BMC Med Genet*. 2012;13:72.
- Shimozawa N, Nagase T, Takemoto Y, Ohura T, Suzuki Y, Kondo N. Genetic heterogeneity of peroxisome biogenesis disorders among Japanese patients: evidence for a founder



- haplotype for the most common PEX10 gene mutation. **Am J Med Genet A**. 2003;120A:40–3.
- Hubbard WC, Moser AB, Liu AC, Jones RO, Steinberg SJ, Lorey F, et al. Newborn screening for X-linked adrenoleukodystrophy (X-ALD): validation of a combined liquid chromatography-tandem mass spectrometric (LC-MS/MS) method. **Mol Genet Metab**. 2009;97:212–20.
- Zellweger spectrum disorders*. (2022). October, 2022.
- Radwan, A. S. (2021). *Zellweger syndrome -Biopsychosocial intervention*. 8(5), 5–8.
- Klouwer, F. C. C., Koot, B. G. P., Berendse, K., Kemper, E. M., Ferdinandusse, S., Koelfat, K. V. K., Lenicek, M., Vaz, F. M., Engelen, M., Jansen, P. L. M., Wanders, R. J. A., Waterham, H. R., Schaap, F. G., & Poll-The, B. T. (2019). The cholic acid extension study in Zellweger spectrum disorders: Results and implications for therapy. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, 42(2), 303–312. <https://doi.org/10.1002/jimd.12042>.
- Klouwer, F. C. C., Berendse, K., Ferdinandusse, S., Wanders, R. J. A., Engelen, M., & Poll-The, B. T. (2015). Zellweger spectrum disorders: Clinical overview and management approach Inherited metabolic diseases. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13023-015-0368-9>.
- Platis CM, Kachko L, Peled E, Katz J. Anesthesia for the child with Zellweger syndrome: a case report. **Paediatr Anaesth** 2006;16:361–362.
- Woodcock T, Barker P, Daniel S, et al. Guidelines for the management of glucocorticoids during the peri-operative period for patients with adrenal insufficiency: Guidelines from the Association of Anaesthetists, the Royal College of Physicians and the Society for Endocrinology **UK. Anaesthesia**. 2020;75:654-63.
- Keane MH, Overmars H, Wikander TM, Ferdinandusse S, Duran M, Wanders RJ A, et al. Bile acid treatment alters hepatic disease and bile acid transport in peroxisome-deficient PEX2 Zellweger mice. **Hepatology**. 2007;45:982–97.
- Kawai, H., Takashima, S., Ohba, A., Toyoshi, K., Kubota, K., Ohnishi, H., & Shimozawa, N. (2023). Development of a system adapted for the diagnosis and evaluation of peroxisomal disorders by measuring bile acid intermediates. **Brain and Development**, 45(1), 58–69. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2022.10.001>.

- Lertsirivorakul J, Wongswadiwat M, Treesuwan P. Oral manifestations and dental management of a child with Zellweger syndrome. **Spec Care Dent.** 2012;34:46–50.
- Oiseth S. (2022, maio 12). Síndrome de Zellweger. <https://www.lecturio.com/pt/concepts/sindrome-de-zellweger/>.
- Zeharia A, Ebberink MS, Wanders RJA, Waterham HR, Gutman A, Nissenkorn A, et al. A novel PEX12 mutation identified as the cause of a peroxisomal biogenesis disorder with mild clinical phenotype, mild biochemical abnormalities in fibroblasts and a mosaic catalase immunofluorescence pattern, even at 40 degrees C. **J Hum Genet.** 2007;52:599–606.
- Takashima S. et.al (2021). Zebrafish model of human Zellweger syndrome reveals organ-specific accumulation of 2 distinct fatty acid species and widespread gene expression changes. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2021.05.002>.
- Al-Sayed M, Al-Hassan S, Rashed M, et al. Preimplantation genetic diagnosis for Zellweger syndrome. **FertilSteril.** 2007 Jun;87(6):1468.e1-3. Epub 2007 Mar 6.
- T. Gronemeyer, S. Wiese, R. Ofman, C. Bunse, M. Pawlas, H. Hayen, M. Eisenacher, C. Stephan, H.E. Meyer, H.R. Waterham, R. Erdmann, R.J. Wanders, B. Warscheid, The proteome of human liver peroxisomes: identification of five new peroxisomal constituents by a label-free quantitative proteomics survey, **PLoS One** 8 (2013), e57395.
- Stradomska, T.J.; Syczewska, M.; Jamroz, E.; Pleskaczyńska, A.; Kruczek, P.; Ciara, E.; Tylicki-Szymanska, A. Serum Very LongChain Fatty Acids (VLCFA) Levels as Predictive Biomarkers of Diseases Severity and Probability of Survival in Peroxisomal Disorders. **PLoS ONE** 2020, 15, e0238796.
- M.S. Ebberink, P.A. Mooijer, J. Gootjes, J. Koster, R.J. Wanders, H.R. Waterham, Genetic classification and mutational spectrum of more than 600 patients with a Zellweger syndrome spectrum disorder, **Hum. Mutat.** 32 (2011) 59–69.
- H.W. Platta, M.O. Debelyy, F. El Magraoui, R. Erdmann, The AAA peroxins Pex1p and Pex6p function as dislocases for the ubiquitinated peroxisomal import receptor Pex5p, **Biochem. Soc. Trans.** 36 (2008) 99e104, <https://doi.org/10.1042/bst0360099>.
- K. Germain, P.K. Kim, Pexophagy: a model for selective autophagy, **Int. J. Mol. Sci.** 21 (2020), <https://doi.org/10.3390/ijms21020578>.
- Enns, G. M., Ammous, Z., Himes, R. W., Nogueira, J., Palle, S., Sullivan, M., & Ramirez, C. (2021). Diagnostic challenges and disease management in patients with a mild Zellweger

- spectrum disorder phenotype. ***Molecular Genetics and Metabolism***, 134(3), 217–222.  
<https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2021.09.007>.
- . Wang, S. Subramani, Role of PEX5 ubiquitination in maintaining peroxisome dynamics and homeostasis, ***Cell Cycle*** 16 (2017) 2037e2045, <https://doi.org/10.1080/15384101.2017.1376149>
- K.B. Law, D. Bronte-Tinkew, E. Di Pietro, A. Snowden, R.O. Jones, A. Moser, J.H. Brumell, N. Braverman, P.K. Kim, The peroxisomal AAA ATPase complex prevents pexophagy and development of peroxisome biogenesis disorders, ***Autophagy*** 13 (2017) 868e884, <https://doi.org/10.1080/15548627.2017.1291470>
- . Zhang, D.N. Tripathi, J. Jing, A. Alexander, J. Kim, R.T. Powell, R. Dere, J. TaitMulder, J.H. Lee, T.T. Paull, R.K. Pandita, V.K. Charaka, T.K. Pandita, M.B. Kastan, C.L. Walker, ATM functions at the peroxisome to induce pexophagy in response to ROS, ***Nat. Cell Biol.*** 17 (2015) 1259e1269, <https://doi.org/10.1038/ncb3230>.
- Anderson, J. N., Ammous, Z., Eroglu, Y., Hernandez, E., Heubi, J., Himes, R., & Palle, S. (2021). Cholbam® and Zellweger spectrum disorders: treatment implementation and management. ***Orphanet Journal of Rare Diseases***, 16(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13023-021-01940-z>.

