

Ana Carolina Barros Bemhaja Ferreira

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Disfunção da Barreira Hematoencefálica na Esclerose Múltipla: a chave do problema ou da solução?” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, da Dra. Alexandra Albuquerque Sousa Dias, da Dra. Margarida Mesquita Carvalho e da Professora Doutora Joana Bicker de Melo Alves Aparício e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Figura de capa

HEALTH INFORMATIVE - **New Model May Help Researchers Overcome the Brain's Fortress-Like Barrier.** [Acedido a 26 de julho de 2018] Disponível na Internet: <http://www.healthinformative.com/news-research/new-model-may-help-researchers-overcome-brains-fortress-like-barrier/>

Ana Carolina Barros Bemhaja Ferreira

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Disfunção da Barreira Hematoencefálica na Esclerose Múltipla: a chave do problema ou da solução?” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, da Dra. Alexandra Albuquerque Sousa Dias, da Dra. Margarida Mesquita Carvalho e da Professora Doutora Joana Bicker de Melo Alves Aparício e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Ana Carolina Barros Bemhaja Ferreira, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2013140881, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Disfunção da Barreira Hematoencefálica na Esclerose Múltipla: a chave do problema ou da solução?” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação, 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, 3 de setembro de 2018.

---

Ana Carolina Barros Bemhaja Ferreira

(Ana Carolina Barros Bemhaja Ferreira)

## **AGRADECIMENTOS**

*A todos os professores da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra por contribuírem para que conseguisse alcançar esta etapa e, principalmente, à Professora Doutora Joana Bicker de Melo Alves Aparício por toda a ajuda, dedicação, disponibilidade e sugestões durante a realização desta monografia.*

*À Dra. Margarida Mesquita Carvalho pela confiança que depositou em mim e, no geral, a toda a equipa do Departamento de Gestão de Qualidade da Bluepharma pelo conhecimento partilhado e por todos os momentos de trabalho em equipa e amizade.*

*À Doutora Maria Filomena Duarte Cardoso Oliveira e à Doutora Alexandra Albuquerque Sousa Dias por todo o apoio e acompanhamento constantes. Um muito obrigada também aos restantes membros da equipa da Farmácia Bairro São Miguel por me fazerem sentir em casa, por toda a ajuda e boa disposição.*

*A Coimbra por me ter dado os melhores amigos com quem podia viver esta jornada e a quem agradeço todo o carinho, amizade e momentos partilhados. A Granada por me mostrar que nada acontece por acaso e por representar o início de uma amizade tão importante.*

*Ao Daniel por ter partilhado comigo os melhores e os piores momentos deste longo percurso, por me ter dado força para ultrapassar todas as pedras que foram surgindo pelo caminho e por toda a paciência, compreensão, carinho e amizade.*

*Por fim, agradeço a toda a minha família, em especial aos meus pais por estarem sempre presentes e me permitirem conquistar esta vitória, aos meus avós por todo o apoio e carinho e aos meus primos por serem os irmãos que nunca tive.*

**A TODOS, UM ENORME OBRIGADA!**

## **CAPÍTULO I**

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

## **CAPÍTULO II**

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

## **CAPÍTULO III**

Disfunção da Barreira Hematoencefálica na Esclerose Múltipla:  
a chave do problema ou da solução?

## **CAPÍTULO I**

---

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

## **I. LISTA DE ABREVIATURAS**

**FBSM** – Farmácia Bairro São Miguel

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

**MICF** – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**MNSRM** – Medicamento não sujeito a receita médica

**MNSRMUV** – Medicamento não sujeito a receita médica de uso veterinário

**MSRM** – Medicamento sujeito a receita médica

**OTC** – *Over-the-counter*

**PVP** – Preço de venda ao público

**SWOT** – Forças, Fraquezas, Oportunidades e Ameaças (do inglês *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*)



## **II. LISTA DE FIGURAS**

Figura I – Resumo esquemático da análise SWOT.

### III. ÍNDICE

<b>1. Introdução</b> .....	1
<b>2. Análise SWOT</b> .....	2
<b>2.1. Pontos Fortes</b> .....	3
2.1.1. Equipa técnica .....	3
2.1.2. Integração gradual no contexto de trabalho.....	3
2.1.3. Localização da farmácia e público-alvo.....	4
2.1.4. Aconselhamento farmacêutico.....	4
2.1.5. Medicamentos não sujeitos a receita médica de uso veterinário .....	5
2.1.6. Medicamentos manipulados e preparações extemporâneas .....	6
2.1.7. Contacto com as áreas de gestão e <i>marketing</i> farmacêutico .....	6
<b>2.2. Pontos Fracos</b> .....	7
2.2.1. Contacto com a área de dermocosmética .....	7
<b>2.3. Oportunidades</b> .....	7
2.3.1. Desenvolvimento de competências de comunicação .....	7
2.3.2. Integração de conhecimentos .....	8
2.3.3. Formações .....	8
<b>2.4. Ameaças</b> .....	8
2.4.1. Receitas eletrónicas e manuais.....	8
2.4.2. Retirada de medicamentos do mercado.....	9
2.4.3. Lacunas em algumas áreas da formação académica.....	9
<b>3. Conclusão e considerações finais</b> .....	11
<b>4. Referências bibliográficas</b> .....	12

## I. Introdução

O plano curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) inclui uma componente prática, em contexto de trabalho, que compreende um período de estágio em Farmácia Comunitária. Neste sentido, tive oportunidade de integrar a equipa da Farmácia Bairro São Miguel (FBSM), na qual realizei esta etapa tão importante do meu percurso académico, sob orientação e supervisão da Dra. Alexandra Albuquerque Sousa Dias.

A FBSM localiza-se no Bairro São Miguel, Eiras, uma zona residencial e periférica da cidade de Coimbra, que se encontra inserida num contexto socioeconómico especial, abrangendo um público-alvo com particularidades muito distintas. A direção técnica da farmácia encontra-se a cargo da Dra. Maria Filomena Duarte Cardoso Oliveira e a restante equipa é constituída pelos seguintes colaboradores:

- Dra. Alexandra Albuquerque Sousa Dias - Farmacêutica Substituta;
- Dra. Cátia Ferreira - Farmacêutica;
- Sílvio Marques - Ajudante Técnico de Farmácia;
- Ricardo André Oliveira - Ajudante Técnico de Farmácia;
- Dr. Vítor Oliveira - Contabilidade e Administração.

O contacto direto com a realidade da FBSM e o constante apoio da equipa técnica assumiram um papel de enorme relevância no meu percurso formativo, uma vez que me permitiram aplicar muitos dos conhecimentos adquiridos durante a formação académica e, também, colmatar algumas das suas lacunas, estimulando o meu desenvolvimento enquanto futura profissional de saúde.

Assim, este relatório apresenta uma reflexão retrospectiva, sob a forma de análise SWOT, que identifica os fatores que mais influenciaram o decorrer o estágio – Pontos Fortes, Pontos Fracos, Oportunidades e Ameaças –, de modo a estabelecer um balanço final da sua contribuição para a minha formação, quer profissional, quer a nível pessoal.

## 2. Análise SWOT

A análise SWOT abrange a identificação das questões internas e externas ao estágio que influenciaram positiva e negativamente a aprendizagem e o decorrer das atividades.

Numa vertente interna, serão elencados os fatores que assumiram um papel positivo no desenvolvimento do estágio (Pontos Fortes) e os que podem ter prejudicado o meu desempenho (Pontos Fracos). Externamente, serão salientados os aspetos que contribuíram para o meu crescimento profissional (Oportunidades), bem como os que constituíram um obstáculo à aprendizagem (Ameaças).

	FATORES POSITIVOS	FATORES NEGATIVOS
ANÁLISE INTERNA	<p><b>Pontos Fortes</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Equipa técnica</li> <li>▪ Integração gradual no contexto de trabalho</li> <li>▪ Localização da farmácia e público-alvo</li> <li>▪ Aconselhamento farmacêutico</li> <li>▪ Medicamentos não sujeitos a receita médica de uso veterinário</li> <li>▪ Medicamentos manipulados e preparações extemporâneas</li> <li>▪ Contacto com as áreas de gestão e <i>marketing</i> farmacêutico</li> </ul>	<p><b>Pontos Fracos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Contacto com a área de dermocosmética</li> </ul>
ANÁLISE EXTERNA	<p><b>Oportunidades</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Desenvolvimento de competências de comunicação</li> <li>▪ Integração de conhecimentos</li> <li>▪ Formações</li> </ul>	<p><b>Ameaças</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Receitas eletrónicas e manuais</li> <li>▪ Retirada de produtos do mercado</li> <li>▪ Lacunas em algumas áreas da formação académica</li> </ul>

Figura 1 - Resumo esquemático da análise SWOT.

## **2.1. Pontos Fortes**

### **2.1.1. Equipa técnica**

A equipa da FBSM constituiu, na minha perspetiva, um dos pontos fortes do estágio, na medida em que, além do conhecimento técnico e científico que revela, é dotada de um enorme espírito de cooperação e entreatajuda, primando sempre pela boa disposição.

Efetivamente, todos se mostraram totalmente disponíveis para esclarecer as dúvidas que foram surgindo, quer durante o atendimento, quer nas atividades de *back-office*, contribuindo para o meu processo de integração na equipa e nas atividades da farmácia. Assim, sinto que este espírito de equipa, bem como o bom ambiente de trabalho, foi essencial para promover a minha confiança no desenvolvimento das diversas tarefas, favorecendo em grande medida o meu processo de aprendizagem. Os meus colegas de estágio também contribuíram significativamente para a minha integração no dia-a-dia da farmácia, uma vez que, pelo facto de terem iniciado o estágio mais cedo, estavam já mais à vontade na realização das várias atividades, apoiando-me sempre que necessário.

Neste sentido, sem dúvida que a equipa técnica da FBSM constitui uma mais-valia para a farmácia por conseguir cativar e fidelizar os utentes através do seu profissionalismo e empatia, mas também para mim, enquanto estagiária, por tudo o que me ensinou e por todos os momentos de aprendizagem e de boa disposição.

### **2.1.2. Integração gradual no contexto de trabalho**

A minha integração nas atividades diárias da farmácia decorreu de forma gradual, permitindo uma aprendizagem direcionada e focada para determinada tarefa.

Inicialmente, comecei pelas atividades de *back-office*, nomeadamente a receção de encomendas, tendo-me sido fornecidas todas as bases para a realização deste processo. Percebi, desde logo, que se trata de uma tarefa de extrema importância para o correto funcionamento da farmácia, uma vez que é essencial para a gestão de *stocks* e controlo de prazos de validade. Além disso, permite a deteção de alterações dos preços dos medicamentos de PVP inscrito na embalagem, bem como da mudança do estatuto de medicamento sujeito a receita médica (MSRM) para medicamento não sujeito a receita médica (MNSRM).

Simultaneamente, foram-me transmitidos os princípios associados ao armazenamento e à organização dos vários medicamentos e outros produtos de saúde, de modo a conhecer a sua localização e disposição na farmácia.

Esta etapa inicial permitiu-me colmatar a dificuldade de associação nome comercial-substância ativa, que posteriormente poderia limitar o atendimento ao público. Além disso, o conhecimento da organização da farmácia e a própria disposição dos vários produtos

também se revelaram aspetos essenciais para otimizar o tempo e a qualidade do atendimento. Por exemplo, o facto de os produtos *over-the-counter* (OTC) se encontrarem dispostos por categoria facilita, indubitavelmente, o aconselhamento, uma vez que nos direciona para determinada secção do linear, colocando à disposição uma gama de produtos indicados para a situação em causa, dentro da qual selecionamos a opção mais adequada.

Após a conclusão desta etapa inicial de integração nas atividades de retaguarda, comecei a assistir ao atendimento ao balcão, o que me permitiu aprender as particularidades do processamento dos vários tipos de receitas médicas (sem papel, eletrónicas e manuais), acompanhar situações de aconselhamento farmacêutico em automedicação e, também, a determinação de parâmetros bioquímicos, fisiológicos e físicos.

Por fim, a última etapa do estágio incluiu o atendimento ao público, primeiro com acompanhamento e depois de forma autónoma, desempenhando um papel fundamental na estimulação da minha determinação e autoconfiança na realização das tarefas.

Assim, considero que este processo de integração gradual constituiu uma força do estágio, uma vez que me permitiu assimilar progressivamente todos os passos do dia-a-dia da farmácia, sempre com acompanhamento constante, contribuindo para o desempenho das minhas funções com autonomia e segurança.

### **2.1.3. Localização da farmácia e público-alvo**

A FBSM abrange uma população muito heterogénea, com níveis de literacia distintos e pertencente a diferentes extratos socioeconómicos, graças à sua localização periférica e à proximidade com algumas zonas mais desfavorecidas da cidade.

Na minha perspetiva, estas características representaram uma enorme vantagem, visto que permitiram estimular a minha capacidade de adaptação e proporcionaram o contacto com diversas situações de atendimento, exigindo a adequação sistemática da abordagem às particularidades de cada utente.

### **2.1.4. Aconselhamento farmacêutico**

O aconselhamento farmacêutico em automedicação faz parte do dia-a-dia de todas as farmácias, uma vez que o farmacêutico estabelece, na maior parte dos casos, o primeiro contacto com o doente, antes de este ponderar recorrer a uma consulta médica. Neste sentido, foram muitos os momentos em que tive oportunidade de prestar aconselhamento e, assim, contribuir para a automedicação de forma consciente e racional.

No início do estágio, que coincidiu com meses mais frios, as principais solicitações corresponderam a antigripais, antitússicos, pastilhas para alívio da dor de garganta e descongestionantes nasais. Com o surgir da primavera, senti um enorme aumento da procura

de anti-histamínicos para o tratamento de patologias do foro alérgico. Deste modo, foi bastante perceptível a sazonalidade da procura deste tipo de produtos. Além dos produtos referidos, foram também muito solicitados produtos para o tratamento de aftas, herpes labial, onicomicoses e picadas de insetos.

Durante o aconselhamento, apercebi-me de que alguns utentes recorrem à aplicação crónica de descongestionantes nasais vasoconstritores (por exemplo Vibrocil®, Nasex® e Nasorhinathiol®), com o objetivo de aliviar a obstrução nasal que sentem durante a noite. Porém, a sua utilização de forma prolongada pode estar associada ao desenvolvimento de congestão *rebound*, agravando os sintomas. Assim, sugeri a substituição destes produtos por água do mar (Rhinomer®, Nasomar®) ou por *sprays* nasais indicados para uso frequente, como o Fitonasal 2Act® ou o Nasivin Mer++®, que apresentam carácter isotónico, respeitando a fisiologia da mucosa nasal.

Surgiu também o caso de uma utente que solicitou Bucagel® para tratar o desconforto do seu bebé causado pela erupção dos primeiros dentes. Contudo, este produto contém salicilato de colina, pelo que está contraindicado em crianças devido ao risco de causar Síndrome de Reye. Deste modo, em alternativa sugeri o Alobaby®, que não contém salicilatos e apresenta um aplicador com cerdas de silicone que permite massajar a gengiva do bebé, aliviando mais facilmente a dor.

Efetivamente, na minha perspetiva, a intervenção farmacêutica em autocuidados de saúde é das áreas mais gratificantes, uma vez que permite ao farmacêutico evitar muitos erros de automedicação e promover o uso racional do medicamento e de outros produtos de saúde.

Assim, considero que a oportunidade de prestar aconselhamento farmacêutico constituiu uma força do estágio, uma vez que, durante a formação académica, o contacto com esta atividade é fortemente limitado. Por esta razão, inicialmente senti bastante dificuldade em indicar corretamente os produtos adequados para a situação em causa, contudo o apoio constante de toda a equipa foi essencial para que, com o decorrer do estágio, me tornasse cada vez mais independente e autónoma durante o aconselhamento.

#### **2.1.5. Medicamentos não sujeitos a receita médica de uso veterinário**

A FBSM apresenta um leque relativamente alargado de medicamentos não sujeitos a receita médica de uso veterinário (MNSRMUV), dispondo de um linear dedicado exclusivamente a estes produtos tão solicitados pelos utentes. A área de veterinária tem cada vez mais expressão ao nível das farmácias comunitárias, permitindo que estas se diferenciem e tornem mais competitivas.

Considero, assim, que a oportunidade de contactar com este tipo de produtos constituiu um ponto forte do estágio, na medida em que motivou o esclarecimento de dúvidas e permitiu colmatar as principais lacunas da minha formação académica nesta área, deixando-me bastante mais segura durante o aconselhamento. Os desparasitantes internos e externos foram os produtos mais solicitados, o que me permitiu familiarizar com as diversas apresentações e marcas existentes no mercado. Neste âmbito, tive também oportunidade de assistir a uma formação na farmácia promovida pela Bayer®, na qual foram abordados os principais produtos da marca e as parasitoses mais comuns.

#### **2.1.6. Medicamentos manipulados e preparações extemporâneas**

Segundo o Decreto-Lei nº 95/2004, de 22 de abril, um medicamento manipulado pode definir-se como “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico”. O principal objetivo destes medicamentos é a personalização da terapêutica, porém a sua prescrição e preparação tem perdido expressão, provavelmente devido à capacidade de as indústrias farmacêuticas apresentarem cada vez mais alternativas terapêuticas a custos reduzidos.

Felizmente, tive oportunidade de participar na preparação de dois medicamentos manipulados: pomada com associação de Dermovate® pomada, vaselina sólida e ácido salicílico (indicada para o tratamento de psoríase) e pomada de enxofre e vaselina (utilizada no tratamento de escabiose). Do meu ponto de vista, a possibilidade de preparar estes medicamentos constituiu um ponto forte do estágio, na medida em que me permitiu contactar com uma atividade cada vez menos frequente, que nem todas as farmácias abrangem.

Ao longo do estágio, foi também necessário proceder à preparação extemporânea de suspensões orais, principalmente antibióticos pediátricos. A dispensa destes medicamentos implica alertar o utente para o prazo de validade após reconstituição, para as condições de conservação e para a necessidade de agitar a suspensão antes de cada toma.

#### **2.1.7. Contacto com as áreas de gestão e *marketing* farmacêutico**

Atualmente, a gestão e o *marketing* farmacêutico assumem um papel central para a sustentabilidade das farmácias. A FBSM está inserida num grupo de compras, que permite o acesso a preços mais competitivos para alguns produtos e, conseqüentemente, a otimização das margens de lucro. Além disso, conta com um membro da equipa técnica, a Dra. Cátia Ferreira, responsável pelas compras através do contacto com os delegados comerciais de farmácia, assim como pela gestão de *stocks* e disposição/organização dos produtos nos lineares.



Foi fundamental perceber como gerir adequadamente as compras, particularmente no que respeita aos medicamentos genéricos e aos OTC, tendo em conta tanto o histórico de vendas e o público-alvo como as campanhas promocionais apresentadas pelos vários laboratórios e armazenistas.

Este contacto próximo com as principais questões inerentes à gestão da farmácia constituiu uma mais-valia para a minha formação, já que me permitiu perceber o quão é importante ter sempre em conta a sua realidade, de modo a otimizar os lineares e a gerir as compras e os *stocks* de forma sensata.

## **2.2. Pontos Fracos**

### **2.2.1. Contacto com a área de dermocosmética**

Tendo em conta o contexto socioeconómico da FBSM, torna-se difícil desenvolver e dinamizar a área de dermocosmética, uma vez que se trata de um tipo de produtos dispendioso e de carácter mais acessório. Deste modo, o meu contacto com esta área foi limitado, constituindo um ponto menos positivo do estágio, já que passou essencialmente pelo aconselhamento de produtos de hidratação corporal e para pele atópica. Contudo, foram-me transmitidas as principais noções relativas a cada linha disponível na farmácia, o que contribuiu para a minha formação nesta área.

## **2.3. Oportunidades**

### **2.3.1. Desenvolvimento de competências de comunicação**

Em farmácia comunitária, a comunicação com os utentes é um fator primordial, na medida em que contribui para a promoção da adesão à terapêutica, mas também para a sua fidelização, sendo essencial adequar o vocabulário ao interlocutor, verificar se a mensagem foi corretamente percebida, demonstrar empatia e manifestar disponibilidade.

Sinto que durante o estágio desenvolvi as minhas competências de comunicação, melhorando a capacidade de chegar aos utentes e de transmitir eficazmente a informação necessária, de modo a garantir o uso correto dos medicamentos.

Surgiu, inclusivamente, uma situação em que me apercebi de que o utente não estava familiarizado com o procedimento de desmame da benzodiazepina que tomava habitualmente, uma vez que o esquema posológico foi indicado pelo médico sob a forma de frações numéricas. Assim, tive necessidade de desenhar esquematicamente as diversas frações de comprimido

que o utente deveria tomar, durante o tempo correspondente indicado pelo médico, de forma a assegurar que o desmame seria realizado de acordo com o pretendido.

Neste sentido, considero que a necessidade de me adaptar e adequar constantemente a cada situação e às características de cada utente constituiu uma oportunidade, na medida em que me permitiu desenvolver e fomentar as minhas competências de comunicação.

### **2.3.2. Integração de conhecimentos**

A formação académica facultada pelo MICF, ainda que com algumas lacunas, é bastante completa, incluindo unidades curriculares direcionadas para as várias áreas da atividade farmacêutica. Este estágio permitiu-me integrar e aplicar muitos dos conhecimentos adquiridos ao longo do MICF, nomeadamente no que respeita às unidades curriculares de Farmacologia, Farmacoterapia, Intervenção Farmacêutica em Auto-cuidados de Saúde e Fitoterapia, Farmácia Galénica e Organização e Gestão Farmacêutica.

Assim, esta oportunidade de passar da teoria à prática constituiu uma mais-valia, uma vez que permitiu não só aplicar e integrar os conhecimentos, mas também adquirir experiência e autoconfiança, deixando-me mais segura e preparada para o mercado de trabalho.

### **2.3.3. Formações**

Ao longo do estágio, tive possibilidade de frequentar algumas formações externas promovidas por diversos laboratórios. Os temas destas formações incluíram contraceção e acne, algumas patologias oculares (olho seco e olho vermelho), psoríase e também as principais linhas dermocosméticas das marcas La Roche-Posay®, Vichy®, CeraVe® e MartiDerm®.

Adicionalmente, assisti a pequenas formações na farmácia ministradas por delegados comerciais, nomeadamente sobre a Jowaeé®, uma nova marca de produtos dermocosméticos, o suplemento alimentar BioActivo Selénio+Zinco® e ainda MNSRMUV do laboratório Bayer®.

Esta oportunidade revelou-se especialmente importante, visto que alguns destes temas foram pouco explorados durante o MICF, principalmente as patologias oculares, que muitas vezes são difíceis de distinguir entre si. Efetivamente, ao longo do estágio, foi necessário aconselhar produtos para o tratamento de problemas oftálmicos, o que teria sido bastante mais difícil sem os conhecimentos que adquiri nas respetivas formações.

## **2.4. Ameaças**

### **2.4.1. Receitas eletrónicas e manuais**

Apesar de a desmaterialização das receitas médicas ter acarretado inúmeras vantagens, também levou a que as receitas eletrónicas e manuais se tornassem cada vez mais raras. Por

este motivo, a probabilidade de serem cometidos erros na sua prescrição e processamento aumentou, visto que os profissionais de saúde não estão tão familiarizados com os respectivos procedimentos.

Assim, este tipo de receitas requer atenção redobrada por parte do farmacêutico, principalmente no que respeita às receitas manuais, de modo a verificar se estão presentes todos os elementos e informações obrigatórias e a garantir que são dispensados os medicamentos que efetivamente constam da receita. Além disso, é necessário estar atento ao regime de comparticipação inscrito na receita, de modo a selecionar o plano correspondente.

Encaro este tipo de receitas como uma eventual ameaça, uma vez que pode potenciar os erros de dispensa (erro no número de unidades, dosagem...), aumentar o tempo de atendimento e impossibilitar a dispensa dos medicamentos devido a erros de prescrição, obrigando os doentes a contactar novamente o médico. Por exemplo, surgiram várias situações em que foram prescritos manualmente produtos destinados ao autocontrolo da diabetes *mellitus*, que possuem um regime especial de comparticipação, em conjunto com outros medicamentos, o que impediu a dispensa da totalidade da receita.

#### **2.4.2. Retirada de medicamentos do mercado**

Através da Circular Informativa nº 096/CD/550.20.001, de 4 de julho de 2018, o INFARMED determinou a recolha de alguns lotes de medicamentos contendo valsartan, por deteção de uma impureza nesta substância ativa. Na sequência da divulgação desta medida, alguns utentes recorreram à farmácia para verificar se os seus medicamentos se encontravam afetados. Efetivamente, houve casos que corresponderam aos lotes suspensos, pelo que foi necessário explicar o contexto da sua retirada do mercado, apresentando alternativas de medicamentos semelhantes. Deste modo, tive a oportunidade de exercer um papel ativo na desmistificação desta questão, tranquilizando os utentes.

Em contrapartida, considero que, para alguns utentes, estas recolhas de medicamentos descredibilizam a atividade do farmacêutico, constituindo uma possível ameaça ao desempenho das nossas funções. Além disso, foi de lamentar que, mesmo após a publicação da referida circular, os próprios fornecedores tenham continuado a enviar lotes afetados, ameaçando assim a nossa atividade caso o erro não fosse detetado durante a receção das encomendas.

#### **2.4.3. Lacunas em algumas áreas da formação académica**

O plano curricular do MICEF contempla diversas áreas das Ciências Farmacêuticas e, no geral, considero que prepara adequadamente os seus estudantes para o mercado de trabalho. Porém, do meu ponto de vista, é necessário repensar algumas unidades curriculares, no que respeita à sua estrutura e organização, de forma a que cumpram mais eficazmente a sua função.

Neste sentido, destaco as seguintes devido à sua relevância em farmácia comunitária: Intervenção Farmacêutica em Auto-cuidados de Saúde e Fitoterapia, Dermofarmácia e Cosmética e Produtos de Uso Veterinário.

A unidade curricular de Intervenção Farmacêutica em Auto-cuidados de Saúde e Fitoterapia beneficiaria, a meu ver, se estas duas áreas fossem divididas, com vista a abranger mais temáticas. Na parte de Intervenção Farmacêutica seria importante abordar mais pormenorizadamente outro tipo de patologias passíveis de automedicação, por exemplo a nível ocular, dermatológico e, também, pediátrico. Além disso, penso que falta uma abordagem mais ativa, através da simulação e apresentação de casos práticos de aconselhamento, de modo a aumentar a segurança e a autoconfiança para aconselhar de forma consciente e racional durante o estágio curricular. Em Fitoterapia, seria benéfico se a informação fosse transmitida de forma mais sistematizada, apresentando os diversos produtos disponíveis no mercado para cada situação, e também através da realização de alguns casos práticos.

A unidade curricular de Dermofarmácia e Cosmética ficou bastante aquém das minhas expectativas, na medida em que, ao longo do MICF, constitui uma das poucas oportunidades de contactar com esta área e, infelizmente, não conseguiu transmitir os conhecimentos necessários para me sentir suficientemente segura durante o aconselhamento. Assim, considero que o seu programa deve ser revisto, no sentido de se aproximar mais das necessidades de aconselhamento e das várias marcas e linhas existentes no mercado, além de fornecer as bases necessárias para identificar a função dos principais componentes e avaliar os tipos de pele e algumas afeções dermatológicas. Efetivamente, é importante que estejamos, desde logo, cientes das especificidades dos principais produtos, de modo a conseguirmos identificar facilmente aqueles que mais se adequam a cada situação.

À semelhança do que se verifica com a área de dermocosmética, também a área de veterinária apresenta algumas lacunas, uma vez que os conteúdos programáticos da respetiva unidade curricular não são, na minha perspetiva, transmitidos de forma sistemática e de acordo com as necessidades reais em contexto de farmácia comunitária.

Deste modo, considero que estas lacunas do plano formativo do MICF podem ter representado uma ameaça ao meu desempenho ao longo do estágio, limitando a minha capacidade de resposta a várias situações de aconselhamento farmacêutico. Deixo, assim, estas críticas construtivas na esperança de que, no futuro, a estrutura do MICF e de algumas unidades curriculares possa ser reavaliada. Torna-se imperativo adequar a teoria às situações reais, proporcionando mais oportunidades de aprendizagem em contexto prático, quer pela simulação de casos de aconselhamento, quer pela implementação de mais momentos de estágio ao longo do curso.

### **3. Conclusão e considerações finais**

O estágio curricular na FBSM constituiu uma importante oportunidade de contactar diretamente com as atividades desenvolvidas em Farmácia Comunitária, permitindo-me aplicar os conhecimentos adquiridos ao longo do MICF e crescer enquanto futura farmacêutica, tanto a nível técnico e científico, como a nível humano.

Efetivamente, o contacto próximo com os utentes, ponto central da atividade do farmacêutico comunitário, demonstrou-me a importância da nossa intervenção na promoção da sua saúde e bem-estar, não só a nível físico, como também emocional, estimulando as minhas capacidades de comunicação, de adaptação e de saber ouvir e aconselhar.

Em relação à FBSM, sinto que não podia ter escolhido melhor e agradeço a toda a equipa por tão bem me ter acolhido, por todo o apoio, pelo conhecimento transmitido e por primar sempre pela boa disposição, gerando um ótimo ambiente de trabalho. De facto, foi um fator determinante para que me sentisse totalmente integrada, sem medo de errar e de procurar ajuda sempre que necessário.

Assim, estabeleço um balanço muito positivo desta experiência, que marcou incontestavelmente o meu percurso académico por me permitir explorar, em contexto prático, as particularidades desta atividade e, ao mesmo tempo, consolidar e complementar os meus conhecimentos teóricos. Termino com a certeza de que ainda me espera um longo caminho de aprendizagem e evolução, mas também com o sentimento de que este estágio contribuiu em grande medida para fomentar o meu entusiasmo e admiração pela atividade farmacêutica, superando todas as minhas expectativas.

#### **4. Referências bibliográficas**

INFARMED, Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. – **Circular Informativa n° 096/CD/550.20.001 Recolha de lotes de medicamentos contendo valsartan.** 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE – **Decreto-Lei n° 95/2004, de 22 de abril.** 2004.

## **CAPÍTULO II**

---

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

## **I. LISTA DE ABREVIATURAS**

**AIM** – Autorização de Introdução no Mercado

**API** – *Active Pharmaceutical Ingredient*

**BLGN** – Bluepharma Genéricos

**CC** – *Change Control*

**EI** – Impurezas Elementares (do inglês *Elemental Impurities*)

**FSI** – *Flash Self Inspections*

**GDP** – Boas Práticas de Distribuição (do inglês *Good Distribution Practices*)

**GGQ** – Gestão e Garantia de Qualidade

**GMP** – Boas Práticas de Fabrico (do inglês *Good Manufacturing Practices*)

**GQ** – Gestão da Qualidade

**ICH** – *International Conference for Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*

**I&D** – Investigação e Desenvolvimento

**IDI** – Investigação, Desenvolvimento e Inovação

**MICF** – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**RA** – Avaliação de Risco (do inglês *Risk Assessment*)

**RH** – Recursos Humanos

**SGI** – Sistema de Gestão Integrado

**SMF** – *Site Master File*

**SOP** – Procedimento Operativo Normalizado (do inglês *Standard Operating Procedure*)

**SST** – Segurança e Saúde no Trabalho

**SWOT** – Forças, Fraquezas, Oportunidades e Ameaças (do inglês *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*)



## **II. LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 – Representação da organização do departamento de Gestão da Qualidade.

Figura 2 – Resumo esquemático da análise SWOT.

Figura 3 – Equipa do departamento de Gestão da Qualidade.

Figura 4 – Certificações atribuídas à Bluepharma.

Figura 5 – Possíveis fontes de impurezas elementares.

### III. ÍNDICE

<b>1. Introdução</b> .....	1
<b>2. Análise SWOT</b> .....	3
<b>2.1. Pontos Fortes</b> .....	4
2.1.1. Processo de acolhimento e integração .....	4
2.1.2. Equipa e ambiente de trabalho.....	5
2.1.3. Formações internas .....	6
2.1.4. Conhecimentos adquiridos e atividades desenvolvidas.....	7
2.1.5. Perspetiva alargada sobre a área de Gestão da Qualidade.....	8
<b>2.2. Pontos Fracos</b> .....	9
2.2.1. Contacto reduzido com algumas áreas do departamento.....	9
<b>2.3. Oportunidades</b> .....	9
2.3.1. Auditorias .....	9
2.3.2. Reforço de competências em Excel.....	9
2.3.3. Contacto diário com a Língua Inglesa .....	10
<b>2.4. Ameaças</b> .....	10
2.4.1. Documentação dos fornecedores.....	10
2.4.2. Formação académica no âmbito da Gestão da Qualidade.....	10
<b>3. Conclusão e considerações finais</b> .....	11
<b>4. Referências bibliográficas</b> .....	12

## I. Introdução

No âmbito do Estágio Curricular de conclusão do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), foi-me concedida a oportunidade de integrar a equipa da Bluepharma, para a realização de um estágio com a duração de 3 meses. Este decorreu no departamento de Gestão da Qualidade (GQ), sob a orientação da Dra. Margarida Mesquita Carvalho.

A Bluepharma é uma empresa portuguesa do setor farmacêutico, sediada em Coimbra, que surgiu em 2001 após a aquisição da unidade industrial à multinacional alemã Bayer. Assim, atualmente conta com 17 anos de exercício da sua atividade, garantindo sempre a excelência, os mais elevados padrões de qualidade e a melhoria contínua (AMBRÓSIO, 2017; BLUEPHARMA, [s.d.]; MESQUITA, 2017).

A atividade da Bluepharma foca-se na produção de formas farmacêuticas sólidas e engloba toda a cadeia de valor do medicamento, pelo que se centra na produção de medicamentos próprios e para terceiros e na comercialização de medicamentos genéricos, passando ainda por uma forte aposta na investigação e desenvolvimento (I&D).

O Sistema de Gestão Integrado (SGI) da empresa segue as disposições das normas NP EN ISO 9001:2015, NP EN ISO 14001:2015, NP 4457:2007, OHSAS 18001:2007 / NP 4397:2008 e Regulamento (CE) n.º 1221/2009 (EMAS), Boas Práticas de Fabrico (GMP), Boas Práticas de Distribuição (GDP) e legislação aplicável. Este tem como objetivo organizar e sistematizar as atividades da empresa, sendo capaz de assegurar e demonstrar a sua capacidade para fornecer produtos que cumprem sistematicamente as disposições aplicáveis, decorrentes quer dos requisitos dos clientes, quer das regras de boas práticas de fabrico e distribuição aplicáveis à Indústria Farmacêutica, no respeito pelo Ambiente e em condições de Segurança e Saúde no Trabalho (SST), satisfazendo a legislação aplicável e mesmo excedendo positivamente as suas determinações e requisitos.

O Sistema de Qualidade está alicerçado nas normas ISO, legislação farmacêutica e *guidelines* relevantes, sendo transversal ao ciclo de vida do produto, com enfoque na melhoria contínua. Todos os sistemas/processos são geridos de acordo com as mais recentes *guidelines*, sendo aplicados igualmente, de uma forma global, os princípios da ICH Q9 *Quality Risk Management* e da ICH Q10 *Pharmaceutical Quality System*.

O esquema seguinte (Figura 1) representa a organização do departamento de GQ, nas suas áreas principais.

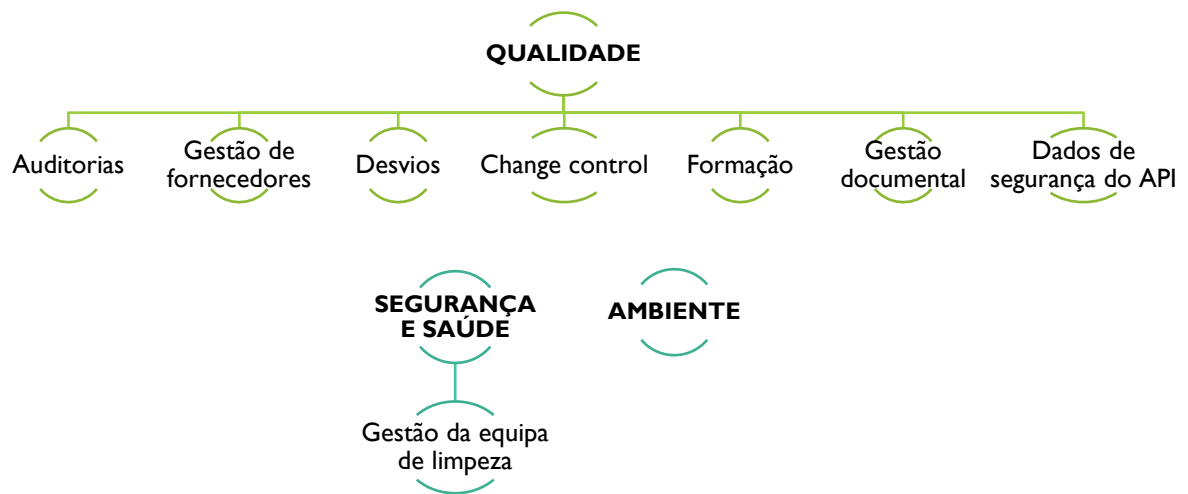


Figura I - Representação da organização do departamento de Gestão da Qualidade.

Durante o período de estágio, tive oportunidade de contactar com a maioria destas áreas, o que me proporcionou uma perspetiva mais alargada sobre as várias preocupações da Indústria Farmacêutica, mostrando-me que estas não se cingem apenas ao medicamento *per se*, mas também a todos os fatores implicados no seu desenvolvimento e produção como, por exemplo, o impacto ambiental decorrente, nomeadamente em termos de tratamento de resíduos, uso racional de água e tratamento de águas residuais, assim como a proteção e saúde dos colaboradores.

O presente relatório tem como principal objetivo abordar as atividades desenvolvidas durante o estágio, integradas na área Gestão de Dados de Segurança do API, com base numa reflexão crítica sob a forma de análise SWOT, de modo a identificar os seus Pontos Fortes e Pontos Fracos, bem como os aspetos percecionados como Oportunidades ou Ameaças.

## 2. Análise SWOT

A análise SWOT baseia-se na identificação dos fatores intrínsecos e extrínsecos ao estágio, dividindo-se, respetivamente, em dois níveis: interno e externo.

Do ponto de vista interno, serão realçados os aspetos que influenciaram positivamente o decorrer do estágio (Pontos Fortes), assim como os que afetaram de modo negativo a aprendizagem (Pontos Fracos). Numa perspetiva externa, destacar-se-ão os fatores que contribuíram para o crescimento a nível profissional (Oportunidades) e os que prejudicaram o desempenho durante o estágio (Ameaças).

	FATORES POSITIVOS	FATORES NEGATIVOS
ANÁLISE INTERNA	Pontos Fortes	Pontos Fracos
	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Processo de acolhimento e integração</li><li>▪ Equipa e ambiente de trabalho</li><li>▪ Formações internas</li><li>▪ Conhecimentos adquiridos e atividades desenvolvidas</li><li>▪ Perspetiva alargada sobre a área de Gestão da Qualidade</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Contacto reduzido com algumas áreas do departamento</li></ul>
ANÁLISE EXTERNA	Oportunidades	Ameaças
	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Auditorias</li><li>▪ Reforço de competências em Excel</li><li>▪ Contacto diário com a Língua Inglesa</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Documentação dos fornecedores</li><li>▪ Formação académica no âmbito da Gestão da Qualidade</li></ul>

Figura 2 - Resumo esquemático da análise SWOT.

## **2.1. Pontos Fortes**

### **2.1.1. Processo de acolhimento e integração**

Considero que o processo de integração na empresa constituiu um ponto forte do estágio, tendo em conta os vários fatores que contribuíram para que este decorresse da melhor forma.

Inicialmente, fui muito bem recebida por membros do departamento de Recursos Humanos (RH) que me transmitiram alguns aspetos importantes relativamente ao funcionamento da empresa e, posteriormente, me apresentaram aos diversos departamentos. Na minha perspetiva, esta apresentação inicial assume um papel bastante relevante, uma vez que permite um primeiro contacto com os colaboradores da Bluepharma, facilitando naturalmente a integração na empresa.

Além disso, o processo de acolhimento contemplou uma reunião com o Dr. Paulo Barradas Rebelo, Presidente Executivo da Bluepharma, várias formações iniciais de carácter geral, de forma a apresentar as temáticas mais centrais da empresa, e uma visita às diversas instalações (Produção, Embalagem, Armazém e Laboratórios). Assim, considero que este processo se revestiu de enorme importância, visto que permitiu uma maior aproximação à filosofia da empresa e uma melhor contextualização das suas características, atividades e requisitos.

Do meu ponto de vista, o facto de a Bluepharma disponibilizar aos seus colaboradores espaços comuns de refeição (copas e cantina) também contribuiu, em grande parte, para facilitar a integração e a relação com os colegas de trabalho, tendo em conta que proporcionou momentos de convívio e de partilha durante os períodos de pausa.

Desta forma, atribuo uma avaliação bastante positiva ao meu processo de integração na empresa, que constituiu uma enorme vantagem para o desenvolvimento e aproveitamento do estágio. Destaco, ainda, que a minha fácil adaptação se deveu, em grande medida, à excelente equipa do departamento de GQ, que tão bem me acolheu e me apoiou durante o decorrer desta experiência, contribuindo para que me sentisse totalmente integrada.

## 2.1.2. Equipa e ambiente de trabalho



Figura 3 - Equipa do departamento de Gestão da Qualidade.

Após a receção inicial pelo departamento de RH, fui recebida pela Dra. Margarida Mesquita Carvalho, Diretora do departamento de GQ, que me transmitiu uma primeira abordagem das tarefas que viria a desenvolver e me apresentou aos restantes membros da equipa. Senti, desde logo, que esta se norteia por um enorme espírito de equipa e de cooperação, o que contribui para um excelente ambiente de trabalho. Caracteriza-se, ainda, por ser uma equipa jovem, altamente qualificada e com enorme sentido de responsabilidade.

Considero que a minha integração na equipa decorreu da melhor forma, assumindo um papel capital na contextualização das atividades do departamento e no desenvolvimento das minhas tarefas. Efetivamente, o acompanhamento e apoio constante que a equipa me proporcionou, assim como o bom ambiente de trabalho que se fez sentir, constituíram aspetos cruciais para o meu processo de adaptação, já que me transmitiram a confiança necessária para o desenvolvimento das minhas funções.

Assim, concluo que a equipa de GQ representa um ponto forte do estágio, tendo contribuído indubitavelmente para fomentar o meu espírito de equipa, bem como o meu gosto pelas atividades que desenvolvi e, em geral, pela área da Qualidade. Inclusivamente, julgo que o facto de ter experienciado este excelente exemplo de um ambiente profissional saudável constitui uma enorme vantagem futura, demonstrando-me que, além de possível, é imprescindível aliar o profissionalismo a um bom ambiente de trabalho.

### 2.1.3. Formações internas

Ao longo do estágio, tive oportunidade de assistir a vários momentos de formação interna, nomeadamente ações de carácter geral, inseridas no processo de acolhimento, e formações individuais com os membros da equipa do departamento de GQ.

As formações de acolhimento incluíram temas fulcrais da atividade farmacêutica e industrial, abordando o SGI ao nível da Qualidade e GMP, Ambiente, SST e Investigação, Desenvolvimento e Inovação (IDI), bem como as diversas certificações da empresa (Figura 4).

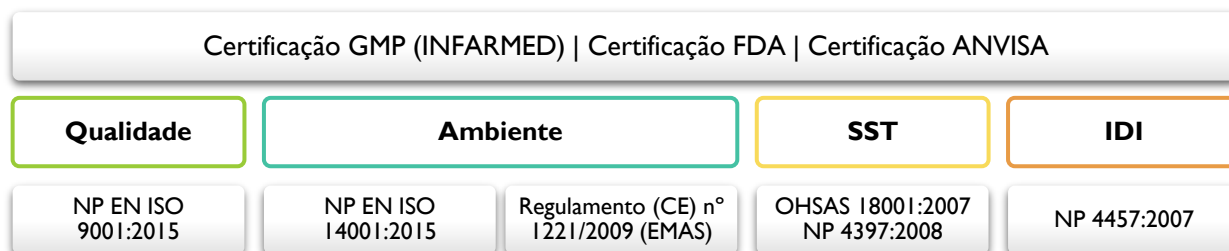


Figura 4 - Certificações atribuídas à Bluepharma. Adaptado de MESQUITA, 2017.

Adicionalmente, foram apresentadas temáticas como Farmacovigilância e Melhoria Contínua. De modo a facilitar a utilização dos recursos informáticos, foram ainda ministradas formações sobre Sistemas de Informação e sobre o Sistema Documental da empresa (*Ennov Doc* e *Ennov Process*), que se revelaram fulcrais para aceder aos documentos necessários para desempenhar as minhas tarefas.

A nível do departamento de GQ, a formação baseou-se na apresentação das atividades e funções desenvolvidas por cada membro da equipa. Esta foi complementada através da leitura de diversos documentos, como o Manual do SGI, o *Site Master File* (SMF), Procedimentos Operativos Normalizados (SOPs) referentes às diversas temáticas abordadas na formação e a *ICH Q3D Guideline for Elemental Impurities*, na qual se focaram as minhas atividades.

As formações com cada elemento da equipa permitiram-me perceber as várias funções e atividades inerentes ao departamento de GQ. Estas incluem a Gestão de Fornecedores, de Auditorias, de Desvios e *Change Controls* (CCs), a Gestão Documental da empresa e, ainda, todas as questões relacionadas com as áreas de Ambiente, Segurança e Saúde. Os Desvios consistem em alterações não planeadas associadas, por exemplo, ao incumprimento de um procedimento previamente estabelecido. Por outro lado, os CCs correspondem a alterações planeadas, podendo consistir numa alteração ao processo de produção, na mudança de determinado fabricante/fornecedor ou na utilização de uma nova matéria-prima.

Na minha perspetiva, a oportunidade de receber formações internas constituiu um ponto forte do estágio, visto que me forneceu as bases necessárias para compreender a estrutura organizacional e o modo de funcionamento da empresa e, em particular, do



departamento de GQ. Assim, foi fundamental obter uma contextualização geral sobre as atividades desenvolvidas para, posteriormente, ser capaz de desempenhar as minhas tarefas da melhor forma, em linha com as políticas preconizadas pela empresa.

#### 2.1.4. Conhecimentos adquiridos e atividades desenvolvidas

Depois da contextualização e formação inicial no departamento, foram-me transmitidas as bases necessárias para exercer a principal tarefa que me foi destinada. Esta consistiu em colaborar com a Dra. Maria Madalena Ribeiro (membro da equipa de GQ) na realização de Avaliações de Risco (RAs) de Impurezas Elementares (EI), relativas ao produto acabado, com vista à implementação da ICH Q3D *Guideline for Elemental Impurities*. Esta *Guideline* entrou em vigor em junho de 2016 para novos pedidos de Autorização de Introdução no Mercado (AIM) e em dezembro de 2017 para medicamentos já aprovados.

Para conseguir levar a cabo esta função, a Dra. Maria Madalena Ribeiro facultou-me toda a informação e conhecimentos necessários, tendo sido também muito importante analisar a ICH Q3D *Guideline*, assim como o SOP intitulado *Elemental impurities risk management on finished product*, de modo a compreender os contornos desta questão.

De acordo com a ICH Q3D *Guideline* e uma vez que as EI não proporcionam benefícios terapêuticos, os seus níveis devem ser controlados no produto acabado, pelo que são estabelecidos limites para cada impureza. Conforme ilustrado na Figura 5, as EI podem resultar de diversas fontes, como é o caso das matérias-primas (substância(s) ativa(s) e excipientes), das máquinas e equipamentos usados durante a produção, do material de acondicionamento e, ainda, da água utilizada na formulação do medicamento (ICH, 2014).

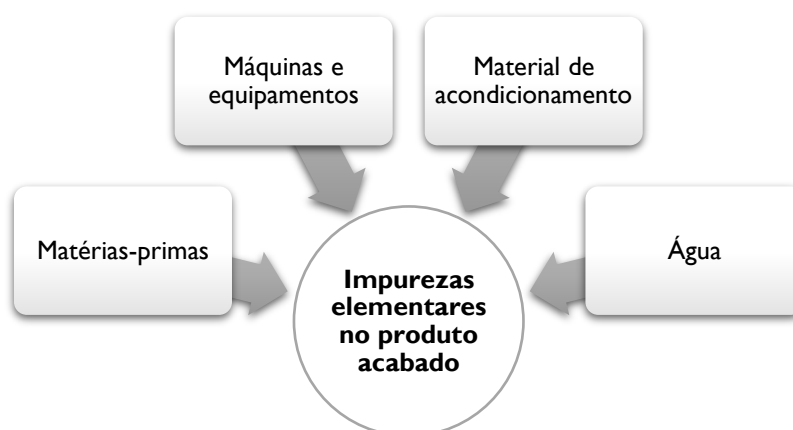


Figura 5 - Possíveis fontes de impurezas elementares. Adaptado de ICH, 2014.

Assim sendo, a RA baseia-se na análise da possibilidade de estas fontes contribuírem com EI para o produto acabado, comprometendo o cumprimento dos limites estabelecidos pela *Guideline*. Como tal, além da análise da constituição das máquinas, equipamentos e

operações envolvidos na produção do medicamento, é ainda tida em conta a documentação relevante de cada componente contemplado na formulação. Deste modo, para cada matéria-prima, são analisados os seguintes documentos: Declaração de Impurezas Elementares, Declaração de Origem, Especificações do Fabricante/Fornecedor e Especificações Internas.

Encaro as atividades realizadas nesta área como um ponto forte do estágio, visto que me permitiram adquirir conhecimentos importantes e contactar com questões novas que não foram abordadas durante a minha formação académica. As minhas funções durante o estágio focaram-se essencialmente nesta tarefa, o que, a par da autonomia que me foi concedida, constituiu um aspeto bastante positivo, já que me permitiu desenvolver a minha confiança e destreza na realização das RAs.

Além das atividades referidas, tive também oportunidade de colaborar na realização do relatório da Consulta ao Público, em que os moradores, empresas vizinhas e empresas subcontratadas foram inquiridos sobre o grau de incomodidade provocado pela presença da Bluepharma, em relação, por exemplo, à circulação de veículos, ao ruído produzido e ao aspeto visual e paisagístico da empresa. Colaborei ainda na redação do relatório da Consulta aos Trabalhadores da Bluepharma Genéricos (BLGN), que foram inquiridos sobre aspetos relacionados com as condições de trabalho e, por exemplo, sobre os cuidados posturais que costumam adotar durante as suas atividades. Assim, posso concluir que a participação nestas tarefas também constituiu um ponto muito positivo do estágio, visto que me permitiu contactar diretamente com outras das atividades desenvolvidas pelo departamento de GQ.

### **2.1.5. Perspetiva alargada sobre a área de Gestão da Qualidade**

O estágio no departamento de GQ permitiu-me adquirir uma visão mais abrangente sobre o trabalho desenvolvido numa Indústria Farmacêutica e sobre a área da Qualidade, que evidentemente é transversal e fundamental a todos os setores da empresa. Neste sentido, revelou-se essencial para a integração dos conhecimentos obtidos durante a formação académica, especialmente nas áreas de Gestão e Garantia de Qualidade, Assuntos Regulamentares e Tecnologia Farmacêutica.

Como é fácil constatar, a GQ representa uma área fulcral para a atividade farmacêutica, já que se ocupa da gestão das diversas certificações e se preocupa com todas as atividades desenvolvidas, de modo a garantir que estas se regem pelos requisitos de qualidade exigidos.

Desta forma, considero que a oportunidade de realizar o estágio no departamento de GQ me permitiu adquirir uma perspetiva mais alargada sobre as questões relacionadas com a Qualidade, o que constituiu um ponto forte do estágio, uma vez que me mostrou a importância prática desta área na atividade farmacêutica.

## **2.2. Pontos Fracos**

### **2.2.1. Contacto reduzido com algumas áreas do departamento**

Posso apontar como ponto menos positivo do estágio o facto de as minhas tarefas se terem focado fundamentalmente numa área de atividade do departamento, deixando de parte algumas questões com as quais não tive oportunidade de trabalhar.

No entanto, tendo em conta a duração do estágio, reconheço que seria difícil executar tarefas de várias áreas do departamento com a confiança e destreza necessárias, pois o tempo disponível para aprimorar cada uma das atividades seria limitado. Assim, considero que este ponto se encontra ultrapassado, visto que me foram ministradas formações sobre cada área do departamento, que me permitiram ficar a par das diversas atividades desenvolvidas.

## **2.3. Oportunidades**

### **2.3.1. Auditorias**

No que respeita às auditorias, estas podem ser externas (realizadas por Autoridades ou Clientes) ou internas (efetuadas pela Bolsa de Auditores Internos ou por Empresas Subcontratadas). Dentro das auditorias internas, existem ainda as *Flash Self Inspections* (FSI), que, ao contrário das restantes, não são programadas, permitindo detetar, em tempo real, situações que exijam algum tipo de intervenção. Por outro lado, a Bluepharma pode auditar os seus fornecedores de matérias-primas ou subcontratar esse serviço.

Durante o período de estágio, a empresa foi alvo de várias auditorias internas e externas. Assim, encaro as auditorias como uma oportunidade, uma vez que me permitiram contactar com o processo e experienciar uma área que, até então, me era desconhecida.

### **2.3.2. Reforço de competências em Excel**

Para a execução das minhas funções, necessitei de trabalhar diariamente com o programa *Microsoft Office Excel*, do qual apenas detinha algumas noções básicas. No decorrer do estágio, com o apoio dos colegas do departamento de GQ, adquiri novas competências importantes para a utilização deste programa.

Encaro os conhecimentos adquiridos nesta área como uma oportunidade, uma vez que, futuramente, podem constituir uma mais-valia a nível profissional, tendo em conta que este programa é uma ferramenta fundamental utilizada na execução de diversas atividades.

### **2.3.3. Contacto diário com a Língua Inglesa**

Durante o estágio, a maioria das atividades que desenvolvi teve por base a análise e preparação de documentação em Inglês. Desta forma, tenho consciência de que os meus conhecimentos de Inglês foram fundamentais para conseguir desempenhar as minhas tarefas com alguma agilidade. Contudo, encaro o contacto diário com a Língua Inglesa como uma oportunidade, visto que me permitiu recordar e reforçar as minhas competências linguísticas, contribuindo para melhorar o meu conhecimento a este nível.

## **2.4. Ameaças**

### **2.4.1. Documentação dos fornecedores**

Para a realização das minhas tarefas, foi necessário recorrer a alguma documentação disponibilizada pelos fornecedores de matérias-primas, nomeadamente Declaração de Impurezas Elementares, Declaração de Origem e Especificações.

De modo a efetuar as RAs com base na informação o mais atualizada possível, houve necessidade de solicitar alguns destes documentos aos respetivos fornecedores. Contudo, em alguns casos, o processo nem sempre decorreu da forma mais célere. Assim, considero que este aspeto constituiu uma ameaça, já que, por vezes, pode ter limitado o desempenho das minhas atividades, alargando o período de tempo necessário para finalizar as RAs.

### **2.4.2. Formação académica no âmbito da Gestão da Qualidade**

A unidade curricular Gestão e Garantia de Qualidade (GGQ) proporciona, durante a formação académica, o principal contacto com as questões associadas à área da Qualidade. Esta transmite algumas noções básicas e importantes sobre a área, introduzindo alguns conceitos que se revelaram essenciais no decorrer do estágio, pelo que reconheço o mérito desta unidade curricular. Porém, a forma como está estruturada nem sempre facilita a compreensão da sua relevância e centralidade.

Neste sentido, considero que a formação académica em GGQ consiste numa ameaça, tendo em conta que pode, logo à partida, limitar o interesse por esta área e condicionar as competências adquiridas. De facto, parece-me que seria importante repensar a organização desta unidade curricular, de forma a que a área da Qualidade se torne, desde logo, mais atraente, sendo percebida como o pilar fundamental que suporta toda a atividade.

No entanto, sinto que este estágio foi essencial para me proporcionar uma visão diferente acerca desta temática, contribuindo seguramente para a construção de uma opinião bastante mais fundamentada e positiva sobre a GQ.

### **3. Conclusão e considerações finais**

A oportunidade de realizar este estágio permitiu-me conhecer mais aprofundadamente as questões relacionadas com a GQ e enriquecer os meus conhecimentos a este nível, demonstrando-me a enorme pertinência desta área para a Indústria Farmacêutica.

O apoio prestado por toda a equipa do departamento de GQ foi essencial para me sentir integrada desde o primeiro momento e conseguir desenvolver todas as tarefas que me foram atribuídas com maior confiança e autonomia.

Saliento o enorme privilégio de ter integrado a equipa de uma empresa de referência do setor farmacêutico como a Bluepharma. Esta oportunidade traduziu-se, sem dúvida, numa importante mais-valia por me ter permitido contactar diretamente com a área de Indústria Farmacêutica e, assim, abrir horizontes no que respeita às diversas atividades que o farmacêutico pode desenvolver, além das inerentes à Farmácia Comunitária.

Numa perspetiva global, atribuo um balanço extremamente positivo a esta experiência, que me proporcionou um contacto mais próximo com o mundo do trabalho, estabelecendo a ponte entre a vida estudantil e a vida profissional.

Assim, considero que este estágio constituiu uma etapa marcante e significativa do meu percurso académico, tendo contribuído para o meu desenvolvimento pessoal e profissional, pelo que não posso deixar de expressar a minha gratidão pela oportunidade que me foi concedida. Sinto-me, agora, muito melhor preparada para enfrentar os desafios que possam surgir no futuro.

#### 4. Referências bibliográficas

AMBRÓSIO, M. - **Manual de Acolhimento**. Coimbra: Bluepharma, 2017.

BLUEPHARMA - **Quem somos**. [Acedido a 10 de março de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.bluepharma.pt/about-us.php>.

ICH, International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use - **Guideline for Elemental Impurities Q3D**. ICH, 2014.

MESQUITA, M. - **Manual do Sistema de Gestão Integrado**. Coimbra: Bluepharma, 2017.

## **CAPÍTULO III**

---

Disfunção da Barreira Hematoencefálica na Esclerose Múltipla:  
a chave do problema ou da solução?

## I. LISTA DE ABREVIATURAS

**ABC** – *ATP-binding cassette*

**ADN** – Ácido desoxirribonucleico

**AGT** – Angiotensinogénio

**AIM** – Autorização de introdução no mercado

**APC** – Célula apresentadora de antígeno (do inglês *antigen-presenting cell*)

**BHE** – Barreira hematoencefálica

**Cd-ATP** – 2-clorodesoxiadenosina trifosfato

**CIS** – Síndrome clínico isolado (do inglês *clinically isolated syndrome*)

**DGS** – Direção-Geral da Saúde

**DMD** – Fármaco modificador da doença (do inglês *disease-modifying drug*)

**DMT** – Terapêutica modificadora da doença (do inglês *disease-modifying therapy*)

**EAE** – Encefalomielite autoimune experimental

**EBV** – Vírus Epstein-Barr (do inglês *Epstein-Barr virus*)

**EM** – Esclerose múltipla

**EMA** – Agência Europeia de Medicamentos (do inglês *European Medicines Agency*)

**EMPP** – Esclerose múltipla primária progressiva

**EMRR** – Esclerose múltipla recidivante remitente

**EMSP** – Esclerose múltipla secundária progressiva

**FDA** – *Food and Drug Administration*

**GA** – Acetato de glatirâmero (do inglês *glatiramer acetate*)

**GALT** – Tecido linfoide associado ao intestino (do inglês *gut-associated lymphoid tissue*)

**HLA** – Antígeno Leucocitário Humano (do inglês *Human Leucocyte Antigen*)

**IFN- $\beta$**  – Interferão beta

**IFN- $\beta$ 1a** – Interferão beta-1a



**IFN-β1b** – Interferão beta-1b

**IFN-γ** – Interferão gama

**IL-10** – Interleucina 10

**IL-12** – Interleucina 12

**IL-17** – Interleucina 17

**IL-23** – Interleucina 23

**LAM** – Molécula de adesão leucocitária (do inglês *leukocyte adhesion molecule*)

**mAb** – Anticorpo monoclonal (do inglês *monoclonal antibody*)

**MAG** – Glicoproteína associada à mielina (do inglês *myelin associated glycoprotein*)

**MBP** – Proteína básica da mielina (do inglês *myelin basic protein*)

**MHC** – Complexo Major de Histocompatibilidade (do inglês *Major Histocompatibility Complex*)

**MOG** – Glicoproteína da mielina dos oligodendrócitos (do inglês *myelin oligodendrocyte glycoprotein*)

**NK** – *Natural killer*

**Nrf2** – Fator nuclear (eritroide-derivado 2)-tipo 2 (do inglês *nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2*)

**PDGF-CC** – Fator de crescimento -CC derivado das plaquetas (do inglês *platelet-derived growth factor -CC*)

**PDGFR-α** – recetor-α do PDGF (do inglês *PDGF receptor-α*)

**PLP** – Proteína proteolípica (do inglês *proteolipid protein*)

**PML** – Leucoencefalopatia multifocal progressiva (do inglês *progressive multifocal encephalopathy*)

**RMN** – Ressonância magnética nuclear

**SIP** – Esfingosina-1-fosfato (do inglês *sphingosine-1-phosphate*)

**SCFA** – Ácido gordo de cadeia curta (do inglês *short-chain fatty acid*)

**SNC** – Sistema nervoso central

**T<sub>H0</sub>** – Linfócito T auxiliar 0 (do inglês *helper 0*)

**T<sub>H1</sub>** – Linfócito T auxiliar 1 (do inglês *helper 1*)

**T<sub>H17</sub>** – Linfócito T auxiliar 17 (do inglês *helper 17*)

**T<sub>H2</sub>** – Linfócito T auxiliar 2 (do inglês *helper 2*)

**TJ** – Junções de oclusão (do inglês *tight junctions*)

**Treg** – Célula T reguladora

**VCAM-1** – Molécula 1 de adesão das células vasculares (do inglês *vascular cell adhesion molecule 1*)

**VEGF-A** – Fator A de crescimento endotelial vascular (do inglês *vascular endothelial growth factor A*)

## **II. LISTA DE TABELAS**

Tabela I – Substâncias ativas aprovadas pelo CHMP (EMA) especificamente para o tratamento de EM.

### III. LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Subtipos de EM.

Figura 2 – Representação esquemática dos modelos *outside-in* e *inside-out*.

Figura 3 – Desregulação imunitária associada aos processos fisiopatológicos da EM.

Figura 4 – Unidade neurovascular.

Figura 5 – Representação de alguns fármacos em aprovação/aprovados para o tratamento de EM.

#### IV. RESUMO

A Esclerose Múltipla (EM) é uma doença autoimune com elevada incidência a nível global, que atinge em maior escala indivíduos do sexo feminino. Pensa-se que a sua etiologia assenta numa complexa associação de diversos fatores ambientais com determinadas características genéticas preexistentes. Esta doença está associada a uma desregulação do sistema imunitário e afeta o sistema nervoso central (SNC), causando desmielinização e degradação axonal. Assim, a EM assume um caráter neurodegenerativo e neuroinflamatório, com consequências a nível físico, cognitivo e emocional.

Este descontrolo da resposta imunitária é considerado o principal responsável pela fisiopatologia da EM, pelo que as armas terapêuticas existentes para modificar o curso da doença se baseiam, fundamentalmente, em mecanismos de imunomodulação.

Contudo, a barreira hematoencefálica (BHE) também parece exercer um papel essencial nos processos fisiopatológicos da doença, uma vez que a sua estrutura se encontra comprometida, impedindo o correto desempenho da sua função protetora do SNC. Por outro lado, verifica-se a existência de uma interação bidirecional entre a microbiota intestinal e a BHE, o que influencia a sua estabilidade e integridade.

Neste sentido, é importante esclarecer a correlação desta barreira e do ambiente entérico com o desenvolvimento de EM, de modo a poder conceber estratégias farmacológicas promissoras com mecanismos de ação inovadores, capazes de revolucionar o mercado terapêutico desta doença, melhorando a sua evolução, a qualidade de vida e o bem-estar dos doentes.

Palavras-chave: esclerose múltipla, neuroinflamação, neurodegeneração, sistema nervoso central, sistema imunitário, barreira hematoencefálica, microbiota intestinal.

## V. ABSTRACT

Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune disease with a high global incidence, which impacts female individuals on a larger scale. It is thought that its etiology is based on a complex association of several environmental factors with preexisting genetic features. This disease is associated to an immune system dysregulation and affects the central nervous system (CNS), causing demyelination and axonal damage. Therefore, MS assumes a neurodegenerative and neuroinflammatory character, with physical, cognitive and emotional consequences.

This dysregulation of the immune response is considered the main factor responsible for MS pathophysiology, so the existing therapeutic weapons to modify the disease course are mainly based on immunomodulation mechanisms.

Nevertheless, the blood-brain barrier (BBB) seems to play an essential role in the pathophysiological processes of the disease, since its structure is compromised, hampering the correct performance of its protective function of the CNS. On the other hand, there is a bidirectional interaction between the gut microbiota and the BBB, which influences its stability and integrity.

Thus, it is important to clarify the correlation of this barrier and the enteric environment with the development of MS, so that it is possible to design promising pharmacological strategies with innovative mechanisms of action, capable of revolutionizing the therapeutic market of this disease in order to improve its evolution, patients' quality of life and well-being.

**Keywords:** multiple sclerosis, neuroinflammation, neurodegeneration, central nervous system, blood-brain barrier, gut microbiota.

## VI. ÍNDICE

<b>1. Introdução</b> .....	1
<b>2. Esclerose Múltipla</b> .....	3
2.1. Etiologia .....	3
2.2. Formas clínicas .....	5
2.3. Fisiopatologia.....	7
<b>3. Barreira Hematoencefálica</b> .....	11
3.1. Estrutura.....	11
3.2. Papel da BHE na EM: alterações estruturais e funcionais da BHE.....	13
3.3. Influência da microbiota intestinal na função da BHE: impacto na EM.....	15
<b>4. Esclerose Múltipla: estratégias terapêuticas</b> .....	19
4.1. Terapêutica não farmacológica.....	19
4.2. Terapêutica farmacológica .....	20
4.3. A BHE enquanto alvo terapêutico na EM .....	27
<b>5. Conclusões e perspectivas futuras</b> .....	28
<b>6. Referências bibliográficas</b> .....	29

## I. Introdução

A Esclerose Múltipla (EM) é uma doença neurodegenerativa, autoimune e inflamatória, de caráter crônico, que afeta o sistema nervoso central (SNC) e se caracteriza por episódios de desmielinização e perda neuronal, com repercussões a nível físico, cognitivo e emocional (BISHOP e RUMRILL, 2015; PALMER, 2009; TAO *et al.*, 2016).

Pensa-se que os processos patológicos associados ao desenvolvimento desta doença estão intimamente relacionados com alterações ao nível da barreira hematoencefálica (BHE). Esta barreira biológica tem como principal função limitar a passagem de compostos potencialmente tóxicos e células imunitárias para o SNC, permitindo preservar um ambiente apropriado para o correto desempenho das suas funções. Quando se verifica um comprometimento da estrutura da BHE, ocorre um desequilíbrio ao nível do SNC, que pode desencadear processos com consequências nefastas para o organismo. Assim, acredita-se que os processos neurológicos associados ao desenvolvimento de EM decorrem de alterações ao nível da BHE que permitem a migração de células imunitárias para o SNC, o que, por sua vez, desencadeia os eventos desmielinizantes que caracterizam a doença (DANEMAN e PRAT, 2015; ORTIZ *et al.*, 2014; SCHENK e VRIES, 2016).

A EM constitui uma das principais causas de incapacidade neurológica crónica, afetando mais de 2,3 milhões de pessoas a nível global, e revela maior prevalência em determinadas regiões, nomeadamente na Europa e na América do Norte. A maioria dos casos surge em adultos jovens (entre os 20 e os 50 anos de idade), porém existem dados que indicam que aproximadamente 2-5% dos doentes são diagnosticados antes dos 18 anos de idade. Relativamente à distribuição por género, verifica-se que a probabilidade de a doença afetar o sexo feminino é cerca de duas a três vezes superior à probabilidade de esta ser diagnosticada num indivíduo do sexo masculino (BISHOP e RUMRILL, 2015; MSIF, 2013). Apesar de os mecanismos moleculares ainda serem desconhecidos, crê-se que este dimorfismo sexual observado em doenças autoimunes poderá estar relacionado com as hormonas sexuais e com o número de cromossomas X que, em consequência, poderão influenciar a transcrição genética e também a microbiota intestinal (BROWN e WEINBERG, 2018; RUBTSOVA *et al.*, 2015).

Esta doença pode apresentar diversas manifestações clínicas dependendo da localização e do tamanho das lesões no SNC. Em muitos casos, os primeiros sintomas consistem em perda de sensibilidade, sensação de dormência no rosto ou nas extremidades (membros superiores ou inferiores) ou alterações visuais, como visão turva ou diplopia,



consequência do desenvolvimento de neurite ótica. Além destes sintomas, é comum verificar-se a presença de dor crônica, fadiga, alteração da função motora associada a problemas de coordenação (ataxia), espasmos e fraqueza muscular (astenia), bem como disfunção urinária, intestinal e sexual. Por outro lado, a EM pode também estar associada a alterações cognitivas, como problemas de memória e de concentração, e emocionais, principalmente transtornos depressivos, sensação de ansiedade e variações de humor (BISHOP e RUMRILL, 2015; NATIONAL MS SOCIETY (a), [s.d.]; SPEM, [s.d.]).

Portanto, tendo em conta as várias particularidades da doença apresentadas, nomeadamente a sua incidência, a idade em que ocorre e as suas manifestações clínicas, é notório o enorme impacto que a EM pode exercer no bem-estar e equilíbrio emocional dos doentes. Assim, torna-se imperativo perceber as bases do desenvolvimento da doença, para que posteriormente seja possível desenvolver novas estratégias de diagnóstico e tratamento precoce que evitem a deterioração da qualidade de vida dos doentes.

## 2. Esclerose Múltipla

### 2.1. Etiologia

Apesar de a etiologia da EM permanecer por clarificar, foi demonstrado que a doença resulta de uma complexa combinação de fatores, podendo ser despoletada por estímulos ambientais em indivíduos com características genéticas particulares (NICHOLAS e RASHID, 2013; TAO *et al.*, 2016; WINGERCHUK, 2012).

Os fatores ambientais descritos como promotores do desenvolvimento da doença compreendem, principalmente, a localização geográfica e exposição solar inerente, a exposição tabágica e o contacto com determinados microrganismos (BISHOP e RUMRILL, 2015; TAO *et al.*, 2016; WINGERCHUK, 2012).

Efetivamente, verifica-se maior prevalência de EM em países com latitude superior, ou seja, mais distantes da linha do Equador (TAO *et al.*, 2016). Pensa-se que este facto pode estar relacionado com a menor incidência dos raios solares nestas zonas do globo, uma vez que a reduzida exposição solar, com conseqüente deficiência de vitamina D, está associada a um maior risco de desenvolver a doença (MSIF, 2013). A vitamina D demonstra efeitos relevantes no desenvolvimento e função cerebrais, sendo considerada um agente neuroprotetor (ASCHERIO *et al.*, 2010; GROVES *et al.*, 2014). Deste modo, baixas concentrações séricas desta vitamina podem contribuir para o desenvolvimento de patologias neurológicas como a EM (ASCHERIO *et al.*, 2010; HOLICK, 2015). Até ao momento, a eficácia da vitamina D como suplemento na EM, em co-administração com interferão beta-1a (IFN- $\beta$ 1a), foi avaliada em dois ensaios clínicos randomizados, CHOLINE (EudraCT 2009-013695-46; NCT01198132) e SOLAR (EudraCT 2010-020328-23; NCT01285401). Porém, nenhum dos ensaios conseguiu demonstrar uma diminuição significativa do número ou frequência de recidivas da doença. Existem atualmente outros ensaios clínicos de maior escala a decorrer, de forma a elucidar o papel da vitamina D como suplemento na EM (SHOEMAKER e MOWRY, 2018).

Os hábitos tabágicos revelam-se igualmente importantes, visto que estão associados ao aumento do risco de desenvolver EM numa relação dose-dependente, bem como à progressão e agravamento da doença (WINGERCHUK, 2012). Além disso, também se observa um aumento do risco nos fumadores passivos, nos casos em que estes apresentam suscetibilidade genética à doença (HEDSTRÖM *et al.*, 2014).

Apesar de não ter sido identificado um agente etiológico específico para a EM, verifica-se uma correlação entre a infeção pelo vírus Epstein-Barr (EBV), causador de

mononucleose infecciosa, e o risco de desenvolver EM. A infeção por EBV é transmitida através da saliva, atingindo aproximadamente 90% da população mundial. A maioria das infeções é contraída na infância e revela-se assintomática, ao passo que as restantes ocorrem durante a adolescência e estão associadas a um risco mais elevado de desenvolver mononucleose infecciosa e EM (ASCHERIO, 2013; BURNARD *et al.*, 2017). De facto, estima-se que, em comparação com indivíduos não infetados, o risco de desenvolver EM é 15 vezes superior em indivíduos infetados por EBV durante a infância e 30 vezes maior em indivíduos infetados durante ou após a adolescência. Assim, conclui-se que, além da infeção por EBV estar associada a uma maior probabilidade de desenvolver EM, o facto de esta ocorrer tardiamente representa um fator de risco adicional para a doença. Efetivamente, verifica-se que a epidemiologia da EM suporta esta conclusão, visto que a incidência da doença aumenta com o *status* socioeconómico, sendo inferior nos países em desenvolvimento, onde as condições de higiene são mais limitadas e a maioria dos indivíduos é infetada por EBV durante os primeiros anos de vida (ASCHERIO, 2013). Um estudo recente confirma a presença de EBV no cérebro da maioria dos doentes de EM e indica que os astrócitos e microglia também podem ser infetados, além das células B (HASSANI *et al.*, 2018). No entanto, são necessários mais estudos para clarificar o mecanismo de envolvimento do EBV na patogénese da EM.

Adicionalmente, alguns estudos realçam também a importância da comunicação entre a microbiota intestinal e o SNC, sugerindo uma potencial influência na regulação da integridade da BHE e na manutenção da sua homeostase. Assim, assume-se que a existência de determinadas alterações a nível intestinal pode, eventualmente, contribuir para os mecanismos fisiopatológicos associados à doença (KEANEY e CAMPBELL, 2015).

A etiologia genética da EM está relacionada com os genes Antígeno Leucocitário Humano (HLA) do Complexo Major de Histocompatibilidade (MHC) que se encontram localizados no locus 21 do braço curto (p) do cromossoma 6 (6p21) (GOURRAUD *et al.*, 2014; TSAI e SANTAMARIA, 2013). O mecanismo de indução de processos autoimunes por variações alélicas destes genes permanece por esclarecer, contudo pensa-se que no caso de alelos responsáveis por uma maior predisposição para a doença, este estará associado a uma modulação do fenótipo dos tímócitos autorreativos, no sentido de promover o desenvolvimento de características patológicas. Por outro lado, acredita-se que os alelos protetores exercem o efeito oposto, constituindo uma defesa contra o desenvolvimento de processos autoimunes. Assim, verifica-se que o risco de desenvolver EM pode aumentar ou diminuir de acordo com determinadas variações neste complexo genético. De facto, a

presença do alelo HLA-DRBI\*15 aparenta aumentar a suscetibilidade à doença, enquanto o alelo HLA-A\*02 parece desempenhar um efeito protetor, pelo que a sua ausência pode também estimular o desenvolvimento de EM (HEDSTRÖM *et al.*, 2014; TSAI e SANTAMARIA, 2013).

Desta forma, conclui-se que a combinação de determinadas variações alélicas nos genes HLA com a exposição a pelo menos um dos fatores ambientais descritos pode aumentar a suscetibilidade de desenvolver a doença, uma vez que permite desencadear os processos autoimunes responsáveis pela sua patogénese.

## 2.2. Formas clínicas

A EM pode apresentar diferentes subtipos clínicos de acordo com as suas características e com o seu padrão de desenvolvimento e evolução. Em 2013, a classificação das formas clínicas da EM foi revista, sendo atualmente considerados os seguintes subtipos: síndrome clínico isolado (CIS), EM recidivante remitente (EMRR), secundária progressiva (EMSP) e primária progressiva (EMPP) (LUBLIN *et al.*, 2014).

O CIS corresponde ao primeiro evento sintomático, decorrente da presença de processos inflamatórios e desmielinizantes no SNC. Apesar de a ocorrência deste episódio não ser condição suficiente para prever o futuro desenvolvimento de EM, quando associada à deteção de determinadas lesões cerebrais por ressonância magnética nuclear (RMN), existe 60-80% de probabilidade de vir a desenvolver a doença após alguns anos. Neste sentido, pode-se considerar que o CIS é a forma clínica que antecede o estabelecimento dos restantes subtipos de EM (LUBLIN *et al.*, 2014; NATIONAL MS SOCIETY (b), [s.d.]).

A EMRR corresponde a cerca de 85% dos diagnósticos, constituindo a forma clínica mais comum da doença. Caracteriza-se por episódios de exacerbação dos sintomas (recidivas), com a duração de dias a semanas, seguidos de períodos de recuperação completa ou parcial (remissão) sem sinais de progressão da doença (BISHOP e RUMRILL, 2015; NATIONAL MS SOCIETY (c), [s.d.]).

Verifica-se que pelo menos 50% dos doentes com diagnóstico inicial de EMRR evolui para EMSP. Este subtipo clínico de EM consiste num agravamento constante e progressivo da função neurológica, bem como do grau de incapacidade, podendo ou não apresentar períodos de recidivas e remissões (BISHOP e RUMRILL, 2015; NATIONAL MS SOCIETY (d), [s.d.]).

A EMPP afeta cerca de 10% dos doentes e caracteriza-se por um declínio progressivo da função neurológica desde o início do estabelecimento da doença, geralmente sem períodos de recidivas e remissões (BISHOP e RUMRILL, 2015; NATIONAL MS SOCIETY (e), [s.d.]).

Relativamente às formas clínicas EMRR, EMSP e EMPP, podem definir-se duas variantes da doença: ativa e inativa. Esta é considerada ativa durante os períodos de recidivas ou quando se verifica a presença de novas lesões detetadas por RMN. Por outro lado, considera-se que a doença está inativa nos momentos de remissão, ou seja, quando não há evidências da atividade da doença (NATIONAL MS SOCIETY (c) (d) (e), [s.d.], [s.d.], [s.d.]). A classificação anterior à atualmente em vigor contemplava o subtipo clínico EM progressiva recidivante (EMPR) para designar os casos em que se verificava um desenvolvimento progressivo da doença, acompanhado de períodos de recidivas e remissões. No entanto, esta forma clínica foi substituída pela classificação EMPP ativa (durante as recidivas) e EMPP inativa (aquando das remissões) (NATIONAL MS SOCIETY (f), [s.d.]).

A Figura I esquematiza os diversos subtipos de EM, bem como o processo evolutivo associado ao desenvolvimento e progressão da doença.

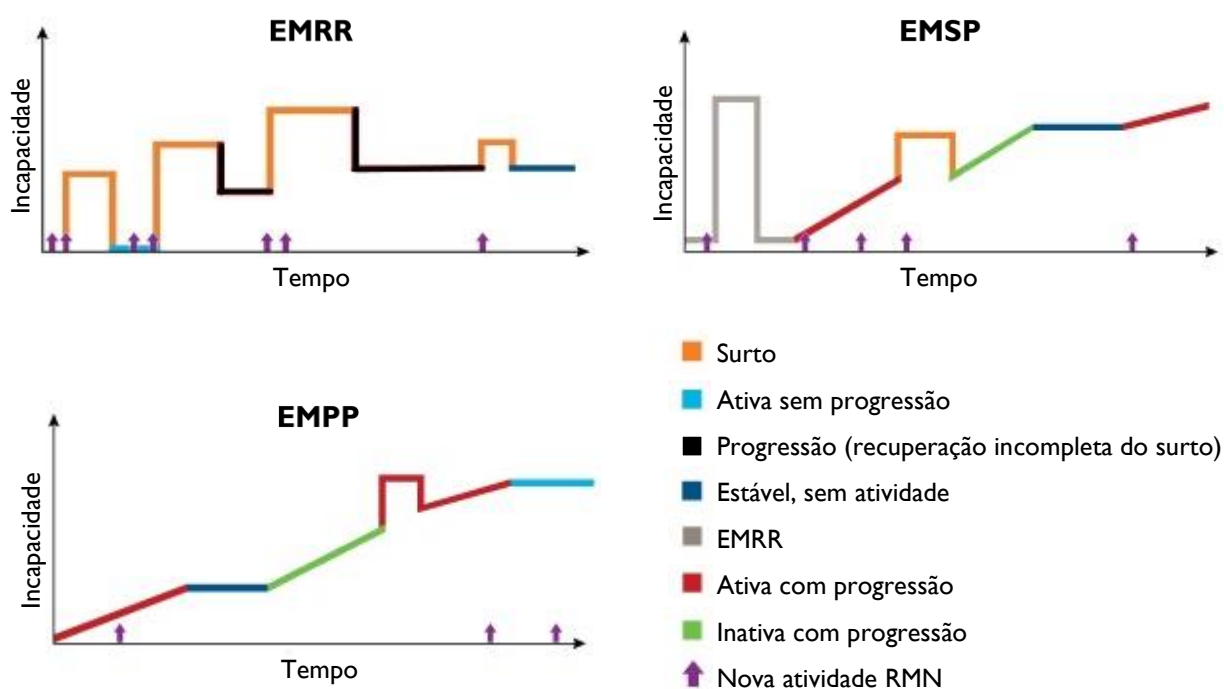


Figura I - Subtipos de EM. Adaptado de NATIONAL MS SOCIETY (g), [s.d.].

EM, esclerose múltipla; EMPP, esclerose múltipla primária progressiva; EMRR, esclerose múltipla recidivante remittente; EMSP, esclerose múltipla secundária progressiva; RMN, ressonância magnética nuclear.

Com o objetivo de definir o grau de gravidade da doença, podem ainda considerar-se as classificações EM benigna e EM maligna. Estas designações dependem da incapacidade provocada pela doença, bem como do seu nível de atividade (EMA, 2015; LUBLIN *et al.*, 2014). De acordo com a *Multiple Sclerosis Society UK*, considera-se que a doença é benigna após cerca de 15 anos sem manifestações clínicas relevantes (MS SOCIETY UK (a), [s.d.]). Por outro lado, o termo maligno refere-se às formas da doença que causam incapacidade severa ou morte num curto período de tempo (EMA, 2015). Porém, recomenda-se que estes termos sejam usados cautelosamente, com base numa abordagem retrospectiva, uma vez que a EM assume um carácter bastante imprevisível, podendo exibir diferentes apresentações ao longo do curso da doença (LUBLIN *et al.*, 2014).

### **2.3. Fisiopatologia**

O desenvolvimento de EM decorre de um processo autoimune, no qual o organismo dirige a resposta imunitária contra autoantígenos ao nível do SNC, atacando a bainha de mielina e os axónios, o que provoca, conseqüentemente, a sua degeneração (BISHOP e RUMRILL, 2015; GARG e SMITH, 2015).

As células da neuroglia responsáveis pela produção de mielina são os oligodendrócitos. A bainha de mielina reveste a porção axonal dos neurónios, sendo responsável pela sua proteção e por permitir a condução saltatória dos impulsos nervosos entre os nódulos de Ranvier, o que aumenta a velocidade e a eficiência energética da condução nervosa ao longo da rede neuronal. Quando esta bainha se encontra comprometida, a transmissão destes impulsos ocorre mais lentamente e as porções de mielina destruída são substituídas por placas ou lesões cicatriciais endurecidas, que interrompem a condução dos impulsos elétricos. Deste modo, as conseqüências da desmielinização resultam na transmissão ineficaz dos impulsos nervosos, levando naturalmente a alterações a nível físico, cognitivo, sensorial e emocional (BISHOP e RUMRILL, 2015).

Não está ainda bem definido se o desenvolvimento inicial da EM ocorre na periferia ou no SNC, tendo sido estabelecidos dois modelos explicativos para a origem da doença (Figura 2). O modelo *outside-in* constitui a hipótese mais comumente aceite e considera que a degradação axonal é secundária à destruição da mielina que, por sua vez, resulta da migração de células do sistema imunitário para o SNC através da BHE. Contudo, o modelo *inside-out* defende que a disfunção ocorre inicialmente no SNC, à semelhança do que se

verifica noutras doenças neurodegenerativas, como as doenças de Alzheimer e de Parkinson. Esta hipótese teoriza que os processos de desmielinização e inflamação são desencadeados por lesões axonais primárias, responsáveis pela libertação de componentes antigénicos capazes de desencadear uma resposta autoimune. Estes dois modelos têm vindo a ser discutidos, permanecendo ainda por esclarecer se ambos contribuem para o desenvolvimento da doença ou se apenas um deve ser considerado (MALLUCCI *et al.*, 2015; STYS *et al.*, 2012).

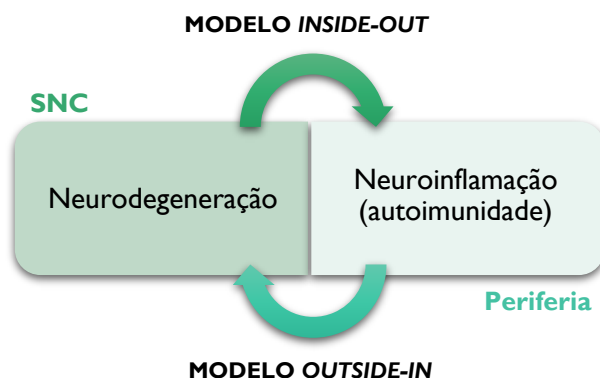


Figura 2 - Representação esquemática dos modelos *outside-in* e *inside-out*. Adaptado de STYS *et al.*, 2012.

SNC, sistema nervoso central.

A EM resulta de um descontrolo das respostas imunitárias inata e adaptativa (YADAV *et al.*, 2015). Pensa-se que esta desregulação imunitária associada à patogénese da EM pode ser desencadeada por dois mecanismos: mimetismo molecular (*molecular mimicry*) e ativação inespecífica (*bystander activation*) de células T autorreativas (MALLUCCI *et al.*, 2015).

O mecanismo de mimetismo molecular baseia-se no facto de determinados autoantígenos e agentes infecciosos apresentarem sequências peptídicas ou padrões estruturais com características semelhantes. Assim, na presença de determinada infeção, o sistema imunitário dirige a sua resposta contra os epítomos do agente infeccioso, passando também a reconhecer como alvo os autoantígenos com sequência/estrutura idêntica. Alguns dos autoantígenos identificados incluem a glicoproteína da mielina dos oligodendrócitos (MOG), a proteína proteolípida (PLP), a glicoproteína associada à mielina (MAG) e a proteína básica da mielina (MBP), que apresenta motivos estruturais do MHC classe II e do recetor de ligação às células T análogos a vários vírus como, por exemplo, o EBV. O modelo experimental animal da EM designa-se por encefalomielite autoimune experimental (EAE) e é obtido através de antígenos da mielina, como a MOG, a PLP, a MAG e a MBP (MALLUCCI *et al.*, 2015).

Por outro lado, o mecanismo de ativação inespecífica de células T autorreativas pressupõe a ativação primária de células apresentadoras de antígenos (APCs) que, por sua vez, permitem que as células T desencadeiem uma resposta autoimune contra determinados epítomos do SNC (MALLUCCI *et al.*, 2015).

Inicialmente, a desregulação imunitária na EM resulta de um descontrole na resposta imune inata, através da ativação de APCs, como células dendríticas, células B, microglia e macrófagos (LOMA e HEYMAN, 2011). A ligação de antígenos à superfície destas células induz a libertação de citocinas que, por sua vez, estimula a diferenciação de células T auxiliares 0 ( $T_H0$ ) ou  $CD4^+$  *naive* em linfócitos pro-inflamatórios T auxiliar 1 ( $T_H1$ ) e T auxiliar 17 ( $T_H17$ ), estabelecendo assim a comunicação com o sistema imunitário adaptativo. Entre as citocinas libertadas pelas APCs, destacam-se a interleucina-12 (IL-12) e a interleucina-23 (IL-23). Na presença de IL-12, ocorre diferenciação em células  $T_H1$  secretoras de interferão gama (IFN- $\gamma$ ). Por outro lado, quando o meio se encontra rico em IL-23, ocorre polarização em células  $T_H17$  produtoras de interleucina-17 (IL-17). Após este processo de diferenciação, as células  $T_H1$  e  $T_H17$  migram para o SNC, libertando citocinas e recrutando outras células do sistema imunitário (GRIGORIADIS e PESCH, 2015; LOMA e HEYMAN, 2011).

Numa situação normal, as citocinas libertadas pelas células  $T_H1$  e  $T_H17$  (IFN- $\gamma$  e IL-17, respetivamente) são responsáveis pela defesa contra agentes patogénicos intracelulares e infeções fúngicas. No entanto, a produção desregulada destes mediadores tem consequências deletérias, uma vez que, além de induzir processos inflamatórios, é responsável pela ativação de macrófagos e de microglia. Por sua vez, estas células produzem outras citocinas pró-inflamatórias, bem como radicais de oxigénio e óxido nítrico, potenciando a desmielinização e a destruição axonal (GRIGORIADIS e PESCH, 2015).

As células T reguladoras (Treg) são outro tipo de células T  $CD4^+$  envolvidas na patogénese da EM, cuja função consiste em regular as células  $T_H1$ , T auxiliar 2 ( $T_H2$ ) e  $T_H17$ . Em comparação com controlos saudáveis, verifica-se uma diminuição da função T reguladora em indivíduos com a doença, apesar de não se observar uma alteração significativa no número de células. Assim, a disfunção destas células contribui para agravar o descontrole da expressão das células T  $CD4^+$  efetoras (LOMA e HEYMAN, 2011).

As células T  $CD8^+$  também exercem um papel importante na EM, sendo frequentemente encontradas nas lesões. Por um lado, estas células podem regular a progressão da doença, visto que suprimem a proliferação das células T  $CD4^+$  através da secreção de uma substância citotóxica (perforina). No entanto, as células T  $CD8^+$  induzem a



morte dos oligodendrócitos, expondo os axónios, e promovem o aumento da permeabilidade vascular, o que compromete a integridade da BHE. Dessa forma, contribuem para facilitar a passagem de células imunitárias para o SNC, agravando a desmielinização e a degradação axonal (KASPER e SHOEMAKER, 2010; LOMA e HEYMAN, 2011).

Além das células T, também as células B contribuem para a patogênese da EM, uma vez que têm a capacidade de se transformar em plasmócitos produtores de anticorpos contra a mielina e outros componentes do SNC (GRIGORIADIS e PESCH, 2015; LOMA e HEYMAN, 2011). Adicionalmente, interagem com as células T CD4+ sob a forma de APCs e produzem citocinas pro-inflamatórias, como IFN- $\gamma$  (KASPER e SHOEMAKER, 2010).

Assim, é notória a complexidade dos processos patológicos que suportam o desenvolvimento de EM, verificando-se o recrutamento de uma multiplicidade de componentes do sistema imunitário que comunicam e cooperam entre si, no sentido de atacar o SNC para destruir a bainha de mielina e fragilizar a estrutura axonal (Figura 3).

De forma a tentar combater a desmielinização e a neuroinflamação, os oligodendrócitos desencadeiam um mecanismo de remielinização. Porém, este mecanismo vai perdendo progressivamente a sua eficácia, levando ao agravamento da doença (MALLUCCI *et al.*, 2015).

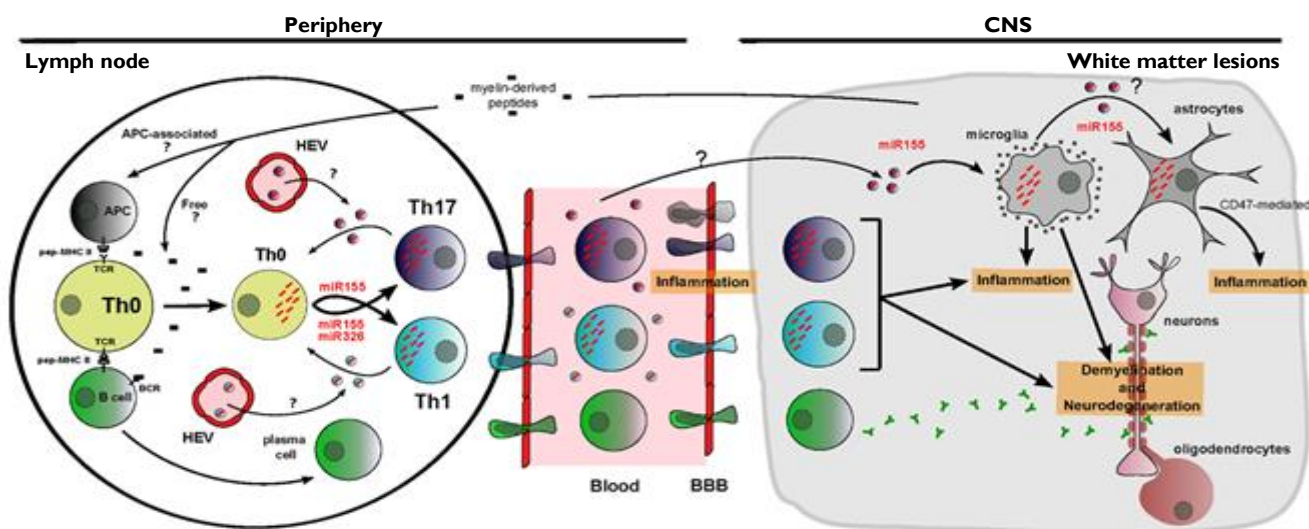


Figura 3 - Desregulação imunitária associada aos processos fisiopatológicos da EM. Adaptado de JAGOT e DAVOUST, 2016.

APC, célula apresentadora de antígenos; BBB, barreira hematoencefálica; BCR, recetor de células B; CNS, sistema nervoso central; HEV, vênulas endoteliais altas; MHC, complexo major de histocompatibilidade; miR, microRNA; TCR, recetor de células T; T<sub>H</sub>0, linfócito T auxiliar 0; T<sub>H</sub>1, linfócito T auxiliar 1; T<sub>H</sub>17, linfócito T auxiliar 17

### 3. Barreira Hematoencefálica

#### 3.1. Estrutura

A BHE consiste numa estrutura biológica complexa, constituída por diversos tipos de células, que limita o contacto entre a circulação sistémica e o SNC. Deste modo, regula o transporte de iões, moléculas e células para o tecido neuronal, permitindo preservar a homeostase e a função do SNC (DANEMAN e PRAT, 2015; KEANEY e CAMPBELL, 2015).

Esta barreira biológica resulta da interação e comunicação entre diferentes tipos de estruturas celulares que, em conjunto, formam a unidade neurovascular (Figura 4). As células endoteliais cerebrais formam as paredes dos vasos sanguíneos e constituem as principais estruturas da BHE. Além deste tipo de células, a unidade neurovascular inclui os astrócitos, os pericitos, a microglia, os neurónios e elementos da matriz extracelular (DANEMAN e PRAT, 2015; KEANEY e CAMPBELL, 2015).

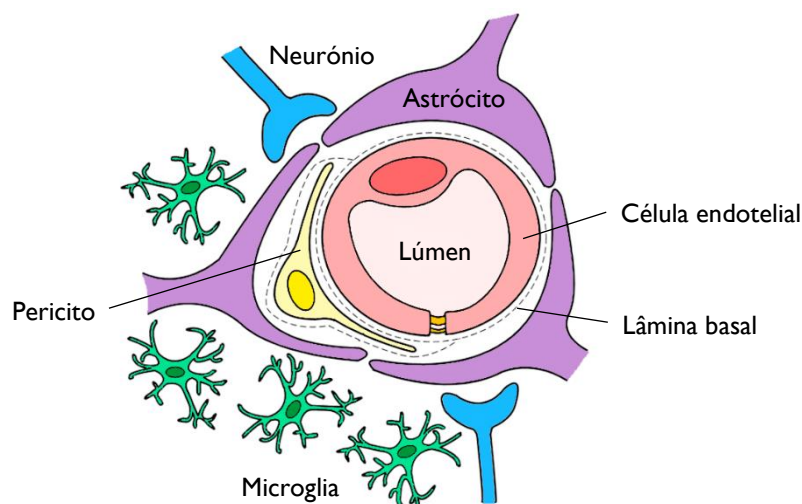


Figura 4 - Unidade neurovascular. Adaptado de BICKER *et al.*, 2014.

#### Células endoteliais

As células endoteliais cerebrais apresentam propriedades diferentes das células endoteliais dos outros tecidos, que se revelam cruciais para manter o equilíbrio do SNC (KEANEY e CAMPBELL, 2015).

A nível estrutural, as células endoteliais cerebrais estão interligadas através de junções de adesão (*adhesion junctions*) e junções de oclusão (*tight junctions* - TJ). Estas últimas limitam o transporte paracelular de iões e moléculas (*gate function*) e mantêm uma distribuição polarizada de proteínas transportadoras entre a membrana apical e basolateral (*fence function*). Outra característica estrutural importante é o facto de estas células não

possuírem fenestras, originando capilares sanguíneos contínuos não fenestrados (DANEMAN e PRAT, 2015; KEANEY e CAMPBELL, 2015).

Além disso, em comparação com o endotélio periférico, apresentam níveis inferiores de vesículas transcitóticas, pelo que o processo de transcitose é mais limitado, restringindo o movimento transcelular de solutos. Verifica-se ainda que o endotélio cerebral possui níveis mais reduzidos de moléculas de adesão leucocitária (LAMs), limitando a entrada de células imunitárias no SNC (DANEMAN e PRAT, 2015).

Por outro lado, sabe-se que as células endoteliais cerebrais possuem transportadores e recetores específicos que controlam a passagem de determinados compostos e substâncias (DANEMAN e PRAT, 2015; KEANEY e CAMPBELL, 2015).

Assim, através de todas estas características, o endotélio cerebral assume um papel essencial na regulação da passagem de compostos, moléculas e células indesejadas para o SNC, de modo a evitar desequilíbrios que possam impactar a função cerebral.

### **Astrócitos**

Os astrócitos são células da glia que suportam e protegem os neurónios, participando nos processos sinápticos. Além desta função, estabelecem a ligação entre o circuito neuronal e os capilares sanguíneos cerebrais através dos seus pedicelos, que revestem as células endoteliais, auxiliando a formação da BHE (DANEMAN e PRAT, 2015; KEANEY e CAMPBELL, 2015). O conjunto dos pedicelos dos astrócitos com a lâmina basal denomina-se *glia limitans*, uma barreira secundária única do SNC que, juntamente com o endotélio vascular, o torna num local imuno-privilegiado (ENGELHARDT *et al.*, 2017).

### **Pericitos**

Os pericitos são células perivascularares, que se encontram envolvidas na lâmina basal. Desempenham diversas funções de regulação, nomeadamente ao nível da angiogénese e do fluxo sanguíneo, uma vez que contêm proteínas contráteis que permitem regular o diâmetro do capilar. Por outro lado, visto que revestem os capilares cerebrais, os pericitos são também muito importantes na formação e manutenção da BHE, sendo capazes de regenerar o endotélio em caso de lesão (DANEMAN e PRAT, 2015; KEANEY e CAMPBELL, 2015).

### **Microglia**

As células da microglia encontram-se localizadas nas proximidades das células endoteliais, porém as consequências da comunicação endotélio-microglia para a formação e regulação da BHE ainda não se encontram totalmente esclarecidas. Sabe-se que a microglia

está envolvida na regulação do desenvolvimento neuronal e na resposta imunitária inata, podendo também atuar ao nível da imunidade adaptativa, como APC (DANEMAN e PRAT, 2015; KEANEY e CAMPBELL, 2015).

### **Lâmina basal**

A lâmina basal consiste numa matriz extracelular de proteínas secretada por astrócitos, pericitos e células endoteliais, que reveste os capilares sanguíneos e regula a comunicação entre os diversos componentes da unidade neurovascular. Além disso, esta membrana confere uma proteção adicional contra a passagem de compostos da corrente sanguínea para o tecido neural, pelo que assume também um papel importante na formação da BHE (DANEMAN e PRAT, 2015; KEANEY e CAMPBELL, 2015).

### **3.2. Papel da BHE na EM: alterações estruturais e funcionais da BHE**

Em condições fisiológicas, existem poucas ou nenhuma células B ou T residentes no parênquima cerebral de indivíduos saudáveis. Durante a imunovigilância do SNC, há subtipos específicos de células T, como células T CD4<sup>+</sup> ativadas, que conseguem atravessar o endotélio da BHE e se acumulam no espaço perivascular, onde permanecem separadas do parênquima cerebral pela *glia limitans*. Se não reconhecerem antígenos específicos apresentados por APCs estrategicamente localizadas no espaço perivascular, não atravessam a *glia limitans* e entram em apoptose ou são drenadas para o líquido cefalorraquidiano (ENGELHARDT *et al.*, 2017). Por isso, é o reconhecimento de antígenos que inicia a neuroinflamação e despoleta a movimentação de células imunitárias da corrente sanguínea para o parênquima cerebral, ao promover a sua passagem através da *glia limitans* (ENGELHARDT e RANSOHOFF, 2012; ENGELHARDT *et al.*, 2017). Contudo, na EM, a função protetora da BHE encontra-se comprometida, o que leva à desregulação bioquímica e imunológica do SNC.

Como referido anteriormente, a EM apresenta uma componente de neuroinflamação e neurodegeneração. Durante o processo inflamatório, os linfócitos que migram para o SNC libertam citocinas pro-inflamatórias e radicais livres de oxigénio e nitrogénio. Estas substâncias induzem um ambiente inflamatório e oxidativo que leva à diminuição da expressão das proteínas das TJ (occludina e claudina) e de transportadores endoteliais *ATP-binding cassette* (ABC) como a glicoproteína-P (KOOIJ *et al.*, 2011). A desregulação dos transportadores de efluxo presentes na BHE traduz-se no aumento da libertação de substâncias inflamatórias e na redução da capacidade de efluxo das células endoteliais

cerebrais, contribuindo para a patogênese da doença (SCHENK e VRIES, 2016). Assim, os mecanismos de transporte paracelular e transcelular são afetados, diminuindo o efeito barreira da BHE e agravando o extravasamento de células imunitárias para o SNC. Desta forma, a resposta inflamatória influencia negativamente a integridade e função da BHE, induzindo um ciclo vicioso de desenvolvimento e estimulação dos mecanismos patogénicos da doença (ORTIZ *et al.*, 2014; SCHENK e VRIES, 2016).

Verifica-se ainda, a capacidade de alguns componentes da BHE, como as células endoteliais e os astrócitos, produzirem mediadores inflamatórios que aumentam a permeabilidade desta barreira e estimulam o recrutamento de células imunitárias para o SNC, promovendo a neuroinflamação (DANEMAN e PRAT, 2015; SCHENK e VRIES, 2016).

As células endoteliais cerebrais produzem quimiocinas responsáveis pelo recrutamento de linfócitos e monócitos e, além disso, possuem LAMs (ainda que em níveis mais reduzidos do que o endotélio dos restantes tecidos) que intervêm no processo de adesão e migração das células imunitárias para o SNC. A função destas células endoteliais é modulada por citocinas pro-inflamatórias (IFN- $\gamma$ , IL-17, entre outras) libertadas pelas células imunitárias presentes no SNC. Estes mediadores, além de afetarem a expressão das proteínas das TJ, estimulam também a sobreexpressão da expressão das quimiocinas pro-inflamatórias endoteliais (DANEMAN e PRAT, 2015).

A desregulação dos astrócitos também contribui para o enfraquecimento da BHE através da sobreexpressão do fator A de crescimento endotelial vascular (VEGF-A). Este fator, após ser libertado, interage com o recetor VEGFR-2 das células endoteliais, induzindo a subregulação das proteínas das TJ e a diminuição da estabilidade da BHE (DANEMAN e PRAT, 2015). De facto, existem estudos efetuados no modelo de EAE que revelam disfunção da BHE perante uma situação de subregulação das proteínas das TJ associada a sobreexpressão do VEGF-A (ORTIZ *et al.*, 2014).

Por outro lado, verifica-se diminuição da expressão de angiotensinogénio (AGT) nos tecidos afetados pela doença. Em condições normais, o AGT é produzido pelos astrócitos e, posteriormente, biotransformado em angiotensina II, que se liga aos recetores ATI das células endoteliais. A ativação destes recetores pela angiotensina II promove a formação de TJ e restringe a permeabilidade através da indução de vasoconstrição. Na EM, tendo em conta que a produção de AGT pelos astrócitos se encontra alterada, os recetores ATI não são ativados, afetando, conseqüentemente, a estabilidade das TJ e a permeabilidade da BHE (DANEMAN e PRAT, 2015). Assim, apesar de os componentes da BHE terem como principal objetivo restringir o acesso de substâncias e células indesejáveis ao SNC, torna-se

clara a relevância da sua intervenção na desregulação da estrutura e função desta barreira, perante um quadro de características neuroinflamatórias.

Todavia, embora a disfunção da BHE contribua para a patogénese da EM, pode também constituir uma oportunidade importante, no sentido em que permite a entrega de fármacos nas regiões cerebrais afetadas de forma mais eficiente. Em situações normais, muitas substâncias ativas são incapazes de atravessar a BHE devido à presença de TJ e transportadores ABC de efluxo, dos quais são substrato. Assim, com o aumento do transporte paracelular por redução da expressão das proteínas das TJ e com a limitação da capacidade de efluxo por subregulação dos transportadores ABC, a entrega e retenção de fármacos a nível cerebral torna-se bastante mais eficaz. Porém, como a disfunção da BHE parece ter carácter transitório, observando-se episódios de recorrência deste fenómeno, a expressão dos transportadores e dos recetores pode variar ao longo do tempo, o que dificulta a seleção de estratégias terapêuticas eficientes (SCHENK e VRIES, 2016).

Por último, é importante referir que a neurodegeneração não deve ser negligenciada, em detrimento da neuroinflamação. Apesar de as atuais opções terapêuticas incidirem sobretudo na componente inflamatória, através da imunomodulação, estas não travam a evolução da doença que permanece ativa, levando à acumulação progressiva de danos neuroaxonais (ZÉPHIR, 2018). A capacidade de algumas células da BHE (microglia e astrócitos) produzirem, por si mesmas, mediadores inflamatórios neurotóxicos que conduzem à neurodegeneração, além das células do sistema imunitário, evidencia a necessidade de novas ferramentas terapêuticas que visem a neuroproteção e/ou regeneração (DENDROU *et al.*, 2015; ZÉPHIR, 2018).

### **3.3. Influência da microbiota intestinal na função da BHE: impacto na EM**

Recentemente, têm surgido evidências que demonstram a existência de uma relação bidirecional entre a microbiota intestinal e o SNC, com capacidade de regular a estrutura da BHE e a função neuronal através da modulação do sistema imunitário. Surgiu, assim, o conceito de eixo cérebro-intestino-microbiota (*microbiota-gut-brain axis*). Crê-se que os microrganismos intestinais poderão influenciar o SNC através da interação direta com estruturas da unidade neurovascular ou da produção periférica de metabolitos capazes de atingir e afetar a BHE (BHARGAVA e MOWRY, 2014; KEANEY e CAMPBELL, 2015; LOGSDON *et al.*, 2017).

Este facto torna-se particularmente relevante na EM, dada a implicação da flora intestinal na diferenciação de algumas células do sistema imunitário. Efetivamente, a presença de alterações a nível entérico pode influenciar o desenvolvimento de doenças autoimunes. Assim, o reconhecimento da comunicação entre os meios intestinal e neurológico constitui uma janela de oportunidade importante para a formulação de novas terapêuticas que permitam restaurar a função da BHE e combater as alterações do SNC (KEANEY e CAMPBELL, 2015; LOGSDON *et al.*, 2017).

A colonização do intestino inicia-se após o nascimento e evolui ao longo da vida, estabilizando na adolescência. A flora intestinal é influenciada por diversos fatores, como o tipo de parto, a dieta e a exposição a antibióticos, estabelecendo uma relação de simbiose com o hospedeiro (BHARGAVA e MOWRY, 2014; LOGSDON *et al.*, 2017).

A microbiota intestinal desempenha várias funções no organismo do hospedeiro. Estudos em murganhos/ratos *germ-free* (modelos experimentais isentos de microrganismos) revelam defeitos ao nível das estruturas epitelial, muscular e vascular entéricas e, também, no desenvolvimento do tecido linfóide associado ao intestino (GALT) e do sistema imunitário periférico. Deste modo, percebe-se a importância destes microrganismos para o normal desenvolvimento das estruturas intestinais e do sistema imunitário, já que grande parte dos seus componentes, especialmente linfócitos e macrófagos, se encontra localizada em estruturas do GALT (BHARGAVA e MOWRY, 2014; LOGSDON *et al.*, 2017).

A contribuição da microbiota intestinal para a imunidade do hospedeiro passa, por exemplo, pelo seu papel na maturação das células T CD4<sup>+</sup> em células T<sub>H</sub>17, responsáveis pela defesa contra agentes patogénicos. Verifica-se, também, a estimulação da produção de células Treg secretoras de interleucina-10 (IL-10), que participam na supressão da resposta imunitária às bactérias comensais (BHARGAVA e MOWRY, 2014; LOGSDON *et al.*, 2017).

Além das funções descritas, a flora intestinal também intervém em reações metabólicas importantes, como a produção de ácidos gordos de cadeia curta (SCFAs) – acetato, butirato e propionato – a partir da fermentação dos hidratos de carbono provenientes da dieta. Os SCFAs regulam o apetite e a motilidade intestinal e modulam o desenvolvimento e função de vários órgãos, incluindo o cérebro, uma vez que conseguem atingir a corrente sanguínea, sendo transportados a diversas zonas do organismo. Sabe-se que o butirato tem efeitos a nível imunitário, estimulando a produção de citocinas anti-inflamatórias e diminuindo a adesão dos leucócitos ao endotélio vascular (BHARGAVA e MOWRY, 2014; BRANISTE *et al.*, 2014; LOGSDON *et al.*, 2017).

Outro estudo experimental com murganhos *germ-free* colonizados com *Clostridium tyrobutyricum*, uma estirpe bacteriana produtora de butirato, demonstrou a capacidade deste metabolito reduzir a permeabilidade da BHE por aumento da expressão das proteínas das TJ. Foi também demonstrado que a administração oral de butirato de sódio exerce efeitos semelhantes, o que sugere que a microbiota intestinal, através dos seus metabolitos, pode interferir de modo positivo na estrutura e função da BHE (BRANISTE *et al.*, 2014).

A comparação entre murganhos/ratos *germ-free* e murganhos/ratos *pathogen-free* (modelos experimentais com microbiota intestinal, mas isentos de microrganismos patogénicos) demonstrou que os primeiros apresentam uma expressão reduzida de proteínas das TJ e, conseqüentemente, uma BHE mais permeável. A colonização posterior destes animais com a flora intestinal dos murganhos/ratos *pathogen-free* permitiu restaurar a função da BHE (BRANISTE *et al.*, 2014). Neste sentido, estas duas evidências reforçam a importância das bactérias comensais para a constituição da BHE.

A microbiota intestinal, além de interferir com as TJ das células endoteliais, pode influenciar outras estruturas celulares pertencentes à unidade neurovascular. Sabe-se, por exemplo, que contribui para o desenvolvimento e maturação da microglia, visto que há estudos em murganhos/ratos *germ-free* em que estas células revelam um fenótipo imaturo (ENRY *et al.*, 2015). Por outro lado, foi demonstrado que os metabolitos resultantes da digestão do triptofano exercem um efeito anti-inflamatório nos astrócitos. Através de estudos num modelo experimental de EM verificou-se que estes metabolitos atenuam os efeitos da doença, podendo eventualmente proteger a BHE, graças à restrição da reposta imunitária por parte dos astrócitos (ROTHHAMMER *et al.*, 2016). A relação entre a microbiota intestinal e os pericitos permanece, ainda, por clarificar (LOGSDON *et al.*, 2017).

Apesar dos efeitos protetores que a microbiota intestinal parece exercer sobre a BHE, verifica-se uma correlação entre o desenvolvimento de EM e a presença destes microrganismos comensais no hospedeiro. Foi, efetivamente, demonstrado que os murganhos/ratos *germ-free* são resistentes ao desenvolvimento de EAE, ao contrário do que acontece quando estes são colonizados com bactérias comensais (BERER *et al.*, 2011). Assim, este estudo sugere que a microbiota intestinal contribui para a resposta inflamatória associada à doença.

A alteração da permeabilidade intestinal também parece influenciar a função cerebral e o desenvolvimento de EM. De facto, quando a permeabilidade se encontra aumentada, ocorre a passagem de macromoléculas, toxinas e bactérias através do epitélio intestinal, o



que pode desencadear doenças imunitárias em vários locais do organismo, incluindo o SNC (BUSCARINU *et al.*, 2018).

Em 2014, um estudo verificou que o desenvolvimento de EAE em modelos animais é precedido de um aumento da permeabilidade intestinal que, por sua vez, agrava a progressão da doença. Constatou-se que esta alteração intestinal se correlaciona com uma desregulação imunitária, em que as células T pro-inflamatórias  $T_H1$  e  $T_H17$  prevalecem sobre as células Treg (NOURI *et al.*, 2014). Outro estudo mais recente revela que o aumento da permeabilidade intestinal é bastante frequente na EMRR, devido a uma deficiência no mecanismo intestinal de absorção ativa. Esta disfunção foi quantificada através da avaliação da capacidade da lactulose e do manitol permearem a mucosa e comparada entre dois grupos experimentais (doentes de EM e controlos saudáveis). A maioria dos doentes apresentou aumento da permeabilidade, o que não se verificou no grupo controlo (a alteração afetou menos de metade dos indivíduos). Estes resultados corroboram a hipótese de que a alteração da permeabilidade a nível intestinal está associada ao desenvolvimento de EM (BUSCARINU *et al.*, 2018).

Deste modo, acredita-se que as alterações da microbiota intestinal podem influenciar a patogénese de doenças do SNC, nomeadamente de EM, através da criação de uma descompensação imunitária que desencadeia uma resposta inflamatória e autoimune (BUSCARINU *et al.*, 2018; LOGSDON *et al.*, 2017).

#### **4. Esclerose Múltipla: estratégias terapêuticas**

De um modo geral, o tratamento da EM ambiciona não só evitar a progressão da doença, mas também melhorar significativamente a qualidade de vida dos doentes, amenizando os sintomas provocados pela desmielinização, degradação e disfunção neuronal (EMA, 2015).

Assim, a terapêutica inclui intervenções a diversos níveis, envolvendo tratamentos com objetivos distintos: combater os sintomas, melhorar os episódios agudos e, ainda, modificar a história natural da doença (EMA, 2015).

O tratamento sintomático pretende controlar os sintomas e evitar as complicações causadas pela EM, tratando-se geralmente de terapêuticas não específicas que não interferem na fisiopatologia da doença. Por outro lado, o tratamento direcionado para controlar os episódios agudos tem como objetivo reduzir a sua duração, limitar a gravidade dos sintomas e prevenir eventuais sequelas. As terapêuticas modificadoras da doença (DMTs) atuam, normalmente, por supressão ou modulação da resposta imunitária, prevenindo o aparecimento de episódios agudos, bem como a progressão da incapacidade (EMA, 2015).

Além destes tratamentos, reconhece-se que a coadjuvação da terapêutica com alternativas não farmacológicas pode ter consequências benéficas na progressão da EM, na medida em que permite evitar a sucessiva perda de funcionalidade do organismo, impactando positiva e significativamente a qualidade de vida dos doentes (NATIONAL MS SOCIETY (h), [s.d.]).

##### **4.1. Terapêutica não farmacológica**

O recurso a tratamentos de reabilitação tem demonstrado benefícios importantes, uma vez que permite evitar que os sintomas da doença interfiram com as tarefas e atividades diárias, ajudando a combater a perda de autonomia dos doentes. A fisioterapia, por exemplo, além de reduzir os sintomas de fadiga e dor, pode ser bastante útil para mitigar problemas de mobilidade, equilíbrio e postura, bem como distúrbios a nível urinário. Por outro lado, a terapia ocupacional e a terapia da fala também revelam interesse, permitindo melhorar problemas de memória, concentração, raciocínio, comunicação e deglutição (MS SOCIETY UK (b), [s.d.]; NATIONAL MS SOCIETY (h), [s.d.]).

## 4.2. Terapêutica farmacológica

A nível farmacológico, conforme referido anteriormente, o tratamento da EM engloba objetivos distintos, desde o controlo dos sintomas à redução da progressão da incapacidade (EMA, 2015). A Tabela I apresenta os fármacos aprovados pela Agência Europeia de Medicamentos (EMA) para o tratamento de EM, bem como as suas indicações terapêuticas e uma breve explicação dos seus mecanismos de ação. A Figura 5 esquematiza os mecanismos de alguns dos fármacos já aprovados e em processo de aprovação.

Para controlar as manifestações da doença, recorre-se a fármacos não específicos, com mecanismos de ação direcionados para cada tipo de sintoma (fadiga, dor, depressão, disfunção urinária, entre outros) (LOMA e HEYMAN, 2011).

Contudo, em 2011, a EMA aprovou a fampridina, um fármaco específico para o tratamento de sintomas de EM, nomeadamente para melhorar os problemas de mobilidade dos doentes. A fampridina é administrada por via oral e atua através do bloqueio dos canais de potássio, permitindo prolongar o período de repolarização, bem como a formação de potencial de ação nos axónios desmielinizados. Deste modo, viabiliza a condução de mais impulsos nervosos ao longo do SNC, o que se traduz numa melhoria da capacidade motora dos doentes. Os principais efeitos adversos incluem, entre outros, o desenvolvimento de infeções do trato urinário, insónias, ansiedade, tonturas, cefaleias, palpitações, náuseas, vómitos e obstipação (EMA, 2011a).

O Sativex® é um medicamento à base de canabinóides, administrado por via oral, que também está indicado no tratamento de sintomas de EM, especialmente no alívio da rigidez muscular (espasticidade), quando outros medicamentos antiespasmódicos demonstram insucesso terapêutico (INFARMED, 2012).

Por outro lado, na presença de um episódio agudo, é necessário controlar os processos inflamatórios, de modo a diminuir a duração do surto (CNFT, 2017). Neste sentido, utilizam-se corticosteróides, como a metilprednisolona, que apresentam um importante efeito anti-inflamatório, impedindo a síntese da maioria das citocinas pro-inflamatórias e a proliferação dos linfócitos (LOMA e HEYMAN, 2011).

Além do tratamento sintomático e da corticoterapia, é também clinicamente relevante recorrer a fármacos imunomoduladores (DMTs) que serão descritos de seguida. Estes tratamentos permitem minimizar o risco de episódios agudos e retardar a evolução da incapacidade, melhorando o curso natural da doença (CNFT, 2017).

Tabela I - Substâncias ativas aprovadas pelo CHMP (EMA) especificamente para o tratamento de EM. Adaptado de EMA, [s.d.]

<b>Substância ativa</b>	<b>Nome comercial</b>	<b>Detentor de AIM</b>	<b>Data de aprovação</b>	<b>Indicação terapêutica</b>	<b>Mecanismo de ação</b>
<b>Ocrelizumab</b>	<b>Ocrevus®</b>	Roche Registration Limited	08/01/2018	EMRR e estadios iniciais de EMPP	Indução de apoptose e citólise por ligação ao antígeno CD20
<b>Cladribina</b>	<b>Mavenclad®</b>	Merck Serono Europe Ltd	22/08/2017	EMRR	Estimulação da apoptose por acumulação de Cd-ATP nos linfócitos
<b>Peginterferão beta-1a</b>	<b>Plegridy®</b>	Biogen Idec Ltd	18/07/2014	EMRR	Atividade imunoreguladora por inibição da proliferação de células T
<b>Fumarato de dimetilo</b>	<b>Tecfidera®</b>	Biogen Idec Ltd	30/01/2014	EMRR	Diminuição do stress oxidativo por ativação do Nrf2
<b>Alemtuzumab</b>	<b>Lemtrada®</b>	Genzyme Therapeutics Ltd	12/09/2013	EMRR	Indução de apoptose e citólise por ligação ao antígeno CD52
<b>Teriflunomida</b>	<b>Aubagio®</b>	Sanofi-Aventis Groupe	26/08/2013	EMRR	Depleção de linfócitos por inibição da dihidroorotato desidrogenase
<b>Fampridina</b>	<b>Fampyra®</b>	Biogen Idec Ltd	20/07/2011	Problemas de mobilidade associados a EM	Bloqueio dos canais de K <sup>+</sup>
<b>Fingolimod</b>	<b>Gilenya®</b>	Novartis Europharm Ltd	17/03/2011	EMRR	Redução do número de linfócitos em circulação por bloqueio da ação da SIP
<b>Interferão beta-1b</b>	<b>Extavia®</b>	Novartis Europharm Ltd	20/05/2008	CIS, EMRR e EMSP ativa	Atividade imunoreguladora por inibição da proliferação de células T
<b>Natalizumab</b>	<b>Tysabri®</b>	Biogen Idec Ltd	27/06/2006	EMRR	Bloqueio da passagem de células imunes para o SNC por inibição da ligação da VCAM-1 ao recetor VLA-4
<b>Interferão beta-1a</b>	<b>Rebif®</b>	Merck Serono Europe Ltd	04/05/1998	CIS e EMRR	Atividade imunoreguladora por inibição da proliferação de células T
<b>Interferão beta-1a</b>	<b>Avonex®</b>	Biogen Idec Ltd	13/03/1997	CIS e EMRR	Atividade imunoreguladora por inibição da proliferação de células T
<b>Interferão beta-1b</b>	<b>Betaferon®</b>	Bayer AG	30/11/1995	CIS, EMRR e EMSP ativa	Atividade imunoreguladora por inibição da proliferação de células T

Cd-ATP, 2-clorodesoxiadenosina trifosfato; CHMP, Comité de Medicamentos de Uso Humano; CIS, síndrome clínico isolado; EM, esclerose múltipla; EMA, Agência Europeia de Medicamentos; EMPP, esclerose múltipla primária progressiva; EMRR, esclerose múltipla recidivante remitente; EMSP, esclerose múltipla secundária progressiva; Nrf2, fator nuclear (eritróide-derivado 2)-tipo 2; SIP, esfingosina-1-fosfato; SNC, sistema nervoso central; VCAM-1, molécula 1 de adesão das células vasculares.

### **Interferão beta**

O interferão beta (IFN- $\beta$ ) foi aprovado nos anos 90 pela *Food and Drug Administration* (FDA) e pela EMA, representando o primeiro fármaco modificador da doença (DMD) disponível no mercado para o tratamento de EM (LOMA e HEYMAN, 2011; ROMMER e ZETTL, 2018).

O IFN- $\beta$  consiste numa citocina com atividade imunoreguladora produzida pelo sistema imunitário em resposta a uma infecção viral. Assim, perante um aumento dos seus níveis no organismo, verifica-se a inibição da atividade e da proliferação das células T, indução da produção de citocinas anti-inflamatórias e das células Treg, redução das citocinas pro-inflamatórias, estabilização da BHE e estimulação da apoptose das células T autorreativas. Neste sentido, o IFN- $\beta$  permite controlar os efeitos neuroinflamatórios característicos da doença, o que se reflete na diminuição do número de surtos e no controlo da progressão da incapacidade (GARG e SMITH, 2015; LOMA e HEYMAN, 2011; ROMMER e ZETTL, 2018).

Existem dois tipos de IFN- $\beta$  no mercado: interferão beta-1b (IFN- $\beta$ 1b) e IFN- $\beta$ 1a (LOMA e HEYMAN, 2011; ROMMER e ZETTL, 2018). Ambos demonstraram eficácia semelhante, sendo considerados tratamentos de primeira linha em doentes com CIS e EMRR. O IFN- $\beta$ 1b é também utilizado nos casos de EMSP ativa (EMA, 2008; GARG e SMITH, 2015).

Os efeitos adversos mais comuns decorrentes da toma de IFN- $\beta$  são o aparecimento de reações inflamatórias no local de injeção, sintomas gripais, cefaleias, fadiga e depressão (LOMA e HEYMAN, 2011; ROMMER e ZETTL, 2018).

### **Acetato de glatirâmero**

O acetato de glatirâmero (GA) é composto pelos principais aminoácidos que constituem a MBP (ácido glutâmico, lisina, alanina e tirosina), permitindo mimetizar este autoantígeno (GARG e SMITH, 2015; LOMA e HEYMAN, 2011). Inicialmente foi concebido para induzir a EAE no modelo animal experimental, porém, surpreendentemente, observou-se um efeito oposto de resistência (ROMMER e ZETTL, 2018). Assim, apesar de o seu mecanismo de ação ainda não se encontrar totalmente esclarecido, sabe-se que envolve o bloqueio da formação de células T direcionadas contra a mielina, a indução da expressão de células Treg específicas para o GA e a estimulação da produção de citocinas anti-inflamatórias (GARG e SMITH, 2015; LOMA e HEYMAN, 2011).

A formulação disponível no mercado denomina-se Copaxone® e está indicada como tratamento de primeira linha de doentes com CIS e EMRR (CAPORRO *et al.*, 2014; GARG e SMITH, 2015). Em comparação com o IFN- $\beta$ , o GA apresenta eficácia semelhante na diminuição dos surtos, porém não revela um efeito tão notório no controlo da progressão da incapacidade associada à doença. A principal vantagem deste fármaco prende-se com o seu perfil de efeitos adversos, que inclui reações menos graves (GARG e SMITH, 2015; ROMMER e ZETTL, 2018).

### **Anticorpos monoclonais**

Os anticorpos monoclonais (mAbs) consistem em terapêuticas imunomoduladoras de elevada especificidade, desenvolvidas para se ligarem a determinada molécula alvo. Estes anticorpos podem atuar de diferentes formas, por exemplo através da ligação à sua molécula alvo, marcando-a para destruição, ou por bloqueio do epítipo necessário para a interação com o ligando, prevenindo a sinalização (LOMA e HEYMAN, 2011).

Encontram-se atualmente aprovados para o tratamento de EM três mAbs, que se encontram referidos na Tabela I. Estes medicamentos estão indicados no tratamento das formas ativas de EMRR, embora o ocrelizumab também esteja indicado nos estadios iniciais de EMPP, com evidência de atividade inflamatória (EMA, 2006, 2013a, 2018a).

O natalizumab tem como alvo o CD49 (subunidade  $\alpha$  do recetor VLA-4), que interage com a molécula I de adesão das células vasculares (VCAM-1), permitindo a passagem de células imunitárias através da BHE. Este mAb bloqueia a ligação da VCAM-1 ao recetor VLA-4, impedindo a adesão das células imunitárias ao endotélio cerebral e a sua migração através da BHE para o SNC (LOMA e HEYMAN, 2011; ROMMER e ZETTL, 2018).

O alemtuzumab liga-se ao antigénio CD52 que se encontra à superfície de vários subtipos de leucócitos – linfócitos T e B, células *natural killer* (NK), monócitos, macrófagos e alguns granulócitos – induzindo apoptose e citólise. Assim, causa uma depleção das células portadoras de CD52, o que estimula a produção de uma nova população de linfócitos e o reequilíbrio do sistema imunitário (LOMA e HEYMAN, 2011; ROMMER e ZETTL, 2018).

Por sua vez, o ocrelizumab liga-se aos linfócitos B que expressam CD20, induzindo a depleção destas células através da estimulação de mecanismos citotóxicos e apoptóticos (ROMMER e ZETTL, 2018).

O rituximab e o ofatumumab também constituem opções terapêuticas anti-CD20, apresentando mecanismos de ação semelhantes ao ocrelizumab, contudo ainda não obtiveram aprovação para o tratamento de EM (LOMA e HEYMAN, 2011; ROMMER e

ZETTL, 2018). O daclizumab foi aprovado em 2016, porém foi retirado do mercado em maio de 2018 por apresentar uma relação benefício-risco negativa, devido à possibilidade de desencadear reações imunes potencialmente fatais (EMA, 2018b; ROMMER e ZETTL, 2018).

Relativamente aos efeitos adversos, os mAbs causam essencialmente reações relacionadas com a sua perfusão intravenosa, que incluem sintomas como pirexia, rubor e tonturas. O natalizumab está, ainda, associado ao risco de desenvolvimento de leucoencefalopatia multifocal progressiva (PML), que consiste numa infeção cerebral oportunista potencialmente fatal causada por reativação do vírus JC em situações de imunossupressão (ROMMER *et al.*, 2014; ROMMER e ZETTL, 2018).

### **Citostáticos**

Alguns fármacos citostáticos, devido aos seus efeitos imunossupressores, revelam interesse terapêutico na EM, salientando-se os seguintes: mitoxantrona, ciclofosfamida, azatioprina, metotrexato e micofenolato de mofetil (LOMA e HEYMAN, 2011). No entanto, na União Europeia, apenas a mitoxantrona apresenta indicação para o tratamento de EM, pelo que os restantes fármacos são utilizados como medicação *off-label* (EMA, 2016; LOMA e HEYMAN, 2011).

A mitoxantrona é, assim, o único citostático contemplado nas indicações da Direção-Geral da Saúde (DGS), sendo utilizada como tratamento de primeira linha nas formas ativas de EMPP e EMSP (DGS, 2015). De facto, permite limitar a disfunção neurológica, uma vez que induz um estado de imunossupressão generalizada por inibição das células B, das células T e da proliferação de macrófagos. Assim, diminui a secreção de citocinas pro-inflamatórias, como o IFN- $\gamma$ , e a degradação de mielina pelos macrófagos. Os efeitos adversos deste fármaco incluem alopecia, náuseas, cefaleias, anemia, cardiotoxicidade e aumento da suscetibilidade a infeções (INFARMED, 2017; LOMA e HEYMAN, 2011).

A ciclofosfamida, a azatioprina, o metotrexato e o micofenolato de mofetil também atuam por imunossupressão através de diversos mecanismos, impedindo a síntese normal de ácido desoxirribonucleico (ADN), o que interfere com a replicação celular e limita a proliferação de células B e T. Deste modo, ocorre diminuição da produção de citocinas pro-inflamatórias e da migração de células imunitárias para o SNC através da BHE, limitando a inflamação associada à doença. Estes fármacos podem provocar alguns efeitos indesejáveis como, por exemplo, alopecia, cefaleias, perturbações gastrointestinais, toxicidade hepática e mielosupressão (LOMA e HEYMAN, 2011).

## Terapêuticas emergentes

No sentido de melhorar a qualidade de vida dos doentes, bem como a adesão à terapêutica e tolerabilidade aos tratamentos, foram desenvolvidas algumas opções terapêuticas passíveis de administração oral: fingolimod, teriflunomida, fumarato de dimetilo e cladribina. Estes fármacos estão indicados na EMRR e surgem como um caminho alternativo aos tratamentos convencionais, que são administrados por via intravenosa, intramuscular ou subcutânea (LOMA e HEYMAN, 2011).

O fingolimod é um análogo estrutural da esfingosina e tem como alvo o recetor da esfingosina-1-fosfato (S1P). A S1P está envolvida na migração dos linfócitos dos órgãos linfóides secundários para a periferia. Deste modo, o fingolimod bloqueia os seus efeitos, impedindo que as células imunitárias abandonem os nódulos linfáticos e atinjam o SNC. Face ao IFN- $\beta$ 1a, verificou-se uma maior redução da taxa de surtos e um efeito semelhante na diminuição da progressão da incapacidade. O fingolimod está associado a linfopenia e a alterações cardíacas, como bradicardia e hipertensão arterial (EMA, 2011b; LOMA e HEYMAN, 2011; ROMMER e ZETTL, 2018).

A teriflunomida inibe a enzima mitocondrial dihidroorotato desidrogenase, que é essencial para a síntese *de novo* de pirimidina e, conseqüentemente, para a proliferação dos linfócitos B e T. Assim, a produção destas células diminui, bem como a secreção de citocinas pro-inflamatórias. Os principais efeitos adversos incluem alopecia, cefaleias e aumento da pressão arterial (EMA, 2013b; LOMA e HEYMAN, 2011; ROMMER e ZETTL, 2018).

O mecanismo de ação do fumarato de dimetilo permanece por esclarecer, contudo pensa-se que consiste na ativação da via de transcrição do fator nuclear (eritróide-derivado 2)-tipo 2 (Nrf2), resultando na diminuição do stress oxidativo, o que se traduz em efeitos neuroprotetores e anti-inflamatórios. O fumarato de dimetilo pode provocar rubor e alterações gastrointestinais (EMA, 2014a; ROMMER e ZETTL, 2018).

A cladribina é um análogo nucleósido da desoxiadenosina, que é transformado na sua forma ativa – 2-clorodesoxiadenosina trifosfato (Cd-ATP) –, a nível intracelular. A Cd-ATP acumula-se nos linfócitos, tornando-os suscetíveis a apoptose. A depleção destas células imunitárias permite a diminuição da inflamação. Os efeitos adversos mais frequentes incluem linfopenia, cefaleias, náuseas e dor abdominal (LOMA e HEYMAN, 2011; ROMMER e ZETTL, 2018).



Além das alternativas terapêuticas apresentadas, também foi desenvolvido o laquinimod para o tratamento de EMRR, porém considerou-se que os benefícios deste medicamento não superam os riscos, pelo que o seu pedido de autorização de introdução no mercado (AIM) foi recusado (EMA, 2014b).

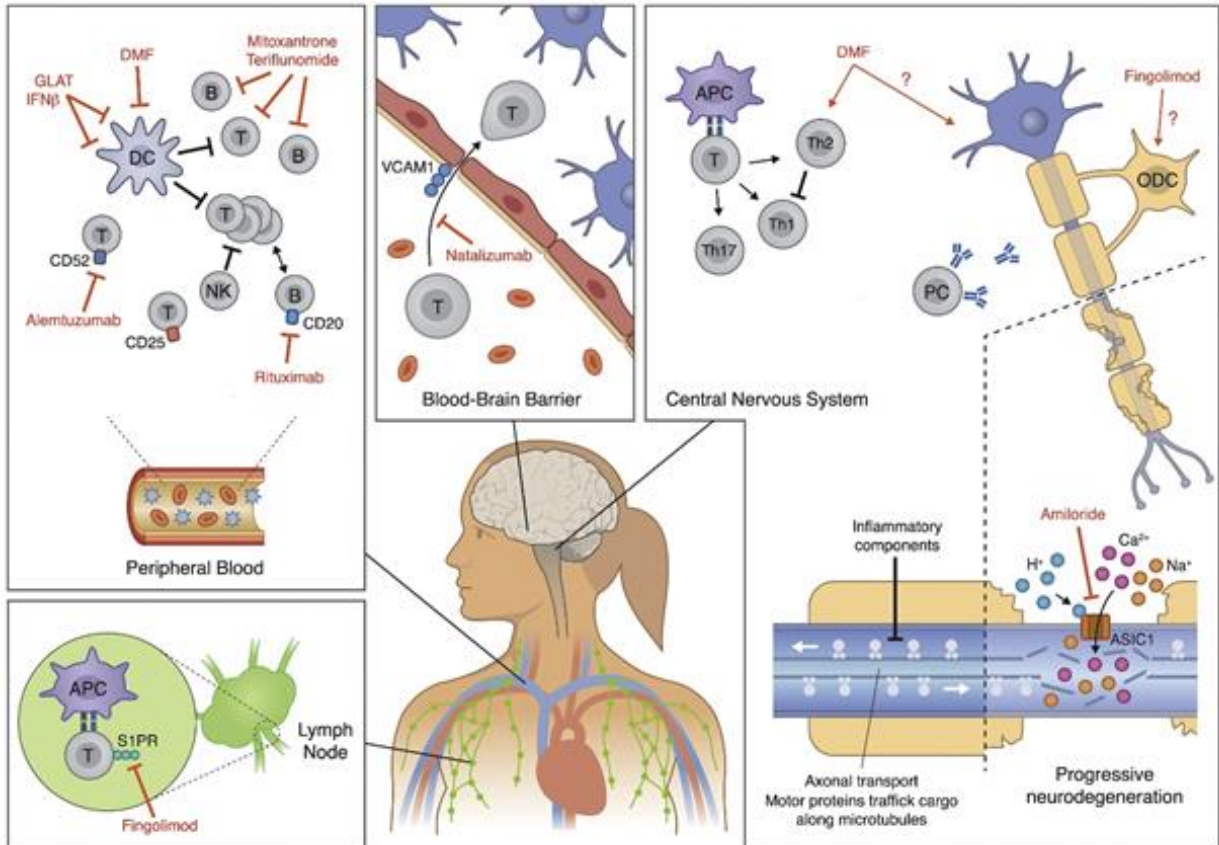


Figura 5 - Representação de alguns fármacos em aprovação/aprovados para o tratamento de EM. Adaptado de DENDROU e FUGGER, 2014.

APC, célula apresentadora de antígeno; ASIC1, *acid-sensing ion channel 1*; B, linfócito B; DC, célula dendrítica; DMF, fumarato de dimetilo; GLAT, acetato de glatirâmero; IFN $\beta$ , interferão beta; NK, célula *natural killer*; ODC, oligodendrócitos; PC, célula plasmática; S1PR, receptor da esfingosina-1-fosfato; T, linfócito T; TH1, linfócito T auxiliar 1; TH17, linfócito T auxiliar 17; TH2, linfócito T auxiliar 2; VCAM-1, molécula 1 de adesão das células vasculares.

### 4.3. A BHE enquanto alvo terapêutico na EM

As terapêuticas existentes para o tratamento de EM focam-se, fundamentalmente, na modulação da resposta imunitária para minimizar a neuroinflamação, deixando de parte potenciais intervenções ao nível da BHE. Efetivamente, apenas o natalizumab intervém na unidade neurovascular, bloqueando a adesão das células imunitárias ao endotélio cerebral.

Considerando a relevância da disfunção da BHE na fisiopatologia da EM, torna-se clara a necessidade de desenvolver agentes farmacológicos que induzam o restabelecimento desta estrutura biológica e da sua capacidade neuroprotetora. Neste sentido, é essencial conhecer os processos que motivam a perda de função e estabilidade desta barreira, de forma a definir corretamente os alvos e os mecanismos de ação a considerar.

Assim, têm sido desenvolvidos alguns estudos experimentais em modelos de EAE para avaliar a potencialidade da BHE enquanto alvo terapêutico. Sabe-se, por exemplo, que o fator de crescimento -CC derivado das plaquetas (PDGF-CC) afeta a integridade da BHE, pelo que a inibição do seu recetor (recetor- $\alpha$  do PDGF - PDGFR- $\alpha$ ) poderia, eventualmente, contribuir para a diminuição da permeabilidade desta barreira. Para tal, recorreu-se ao imatinib (inibidor da tirosina cinase) e verificou-se que promove a integridade da BHE, melhorando a neuroinflamação e atrasando o desenvolvimento da doença (ADZEMOVIC *et al.*, 2013). Foi também estudada a ação do LY-317615, um inibidor da tirosina cinase C $\beta$ , tendo sido demonstrado que reduz a migração transendotelial de células T por indução das proteínas das TJ, restringindo a inflamação e os danos neuronais (LANZ *et al.*, 2013).

Apesar dos mecanismos subjacentes permanecerem por clarificar, sabe-se que os recetores dos canabinóides também estão implicados na função da BHE, promovendo a sua integridade por estimulação das TJ. Estes recetores exercem um efeito neuroprotetor, podendo constituir um importante alvo terapêutico para modular a interação entre o endotélio e as células imunitárias e inibir a sua entrada no SNC (VENDEL e LANGE, 2014).

A orientação da ação farmacológica diretamente para a BHE parece, deste modo, constituir um caminho plausível para o tratamento de EM. Porém, tendo em conta o eixo cérebro-intestino-microbiota e a interação entre estas estruturas, poderá tornar-se relevante desenvolver novas estratégias terapêuticas que visem, também, promover alterações a nível entérico com capacidade de influenciar positivamente a BHE.

Portanto, é fundamental aprofundar os conhecimentos relativos aos mecanismos que estimulam a disfunção da BHE. De facto, não só é necessário modular as TJ das células endoteliais, como também é importante intervir ao nível dos astrócitos e da microglia, no sentido de promover a integridade da BHE e contrariar os processos neurodegenerativos.

## 5. Conclusões e perspectivas futuras

A EM influencia significativamente a qualidade de vida dos doentes, tanto a nível físico como emocional. Efetivamente, é uma doença bastante incapacitante que afeta uma parte considerável da população mundial, desenvolvendo-se, por norma, numa idade muito precoce. Estas características tornam a EM num importante alvo de estudo, no sentido de desenvolver novas estratégias terapêuticas que promovam o bem-estar dos doentes e permitam travar a evolução da doença.

Assim, o conhecimento dos processos fisiopatológicos e das alterações estruturais e funcionais que estes induzem no organismo assume um papel capital no desenvolvimento de novas estratégias, já que permite elucidar os alvos terapêuticos a considerar.

A descoberta do envolvimento da BHE na patogénese da EM, além da desregulação imunitária, veio abrir caminho para o estudo de potenciais novos fármacos com ação nesta estrutura biológica. De facto, a disfunção da BHE, no que respeita à sua integridade e permeabilidade, bem como a desregulação de algumas células que compõem a unidade neurovascular, tem uma enorme influência no desenvolvimento e progressão da doença.

Por outro lado, a descoberta da comunicação gastrointestinal-neuronal foi também muito importante, uma vez que se verificou a intervenção do meio entérico na estrutura e função da BHE e do sistema imunitário. Porém, ainda é necessário compreender melhor e mais detalhadamente as vias de interação cérebro-intestino.

Tendo em conta estas evidências científicas, conclui-se que o desenvolvimento de intervenções farmacológicas com capacidade de estabilizar a BHE e restaurar a sua função, quer por ação direta, quer indiretamente através de efeitos no ambiente intestinal, pode apresentar um importante potencial terapêutico e vir a constituir uma alternativa plausível aos tratamentos já existentes.

Na minha perspetiva, estas evidências do envolvimento da BHE e da microbiota intestinal na fisiopatologia da EM marcam a mudança do paradigma no que respeita ao tratamento desta doença. Sem dúvida que estas descobertas permitem ultrapassar a barreira dos mecanismos de imunomodulação e intervir no cerne da questão: a estrutura e função da BHE que, estando comprometida, possibilita a migração transendotelial de células imunitárias para o SNC e, conseqüentemente, o desenvolvimento dos processos neuroinflamatórios e neurodegenerativos responsáveis pelas manifestações clínicas e pela evolução da doença.

## 6. Referências bibliográficas

ADZEMOVIC, M. Z.; ZEITELHOFER, M.; ERIKSSON, U.; OLSSON, T.; NILSSON, I. - **Imatinib Ameliorates Neuroinflammation in a Rat Model of Multiple Sclerosis by Enhancing Blood-Brain Barrier Integrity and by Modulating the Peripheral Immune Response.** PLoS ONE. 8, 2 (2013) e56586.

ASCHERIO, A. - **Environmental factors in multiple sclerosis.** Expert Review of Neurotherapeutics. 13, Suppl. 12 (2013) 3-9.

ASCHERIO, A.; MUNGER, K. L.; SIMON, K. C. - **Vitamin D and multiple sclerosis.** The Lancet Neurology. 9, 6 (2010) 599-612.

BERER, K.; MUES, M.; KOUTROLOS M.; RASBI, Z. A.; BOZIKI, M.; JOHNER, C.; WEKERLE, H.; KRISHNAMOORTHY, G. - **Commensal microbiota and myelin autoantigen cooperate to trigger autoimmune demyelination.** Nature. 479, 7374 (2011) 538-541.

BHARGAVA, P.; MOWRY, E. M. - **Gut Microbiome and Multiple Sclerosis.** Current Neurology and Neuroscience Reports. 14, 10 (2014) 492.

BICKER, J.; ALVES, G.; FORTUNA, A.; FALCÃO, A. - **Blood-brain barrier models and their relevance for a successful development of CNS drug delivery systems: a review.** European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 87, 3 (2014) 409-432.

BISHOP, M.; RUMRILL, P. D. - **Multiple sclerosis: Etiology, symptoms, incidence and prevalence, and implications for community living and employment.** Work. 52, 4 (2015) 725-734.

BRANISTE, V.; AL-ASMAKH, M.; KOWAL, C.; ANUAR, F.; ABBASPOUR, A.; TÓTH, M.; KORECKA, A.; BAKOCEVIC, N.; NG, L. G.; KUNDU, P.; GULYÁS, B.; HALLDIN, C.; HULLTENBY, K.; NILSSON, H.; HEBERT, H.; VOLPE, B. T.; DIAMOND, B.; PETTERSSON, S. - **The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice.** Science Translational Medicine. 6, 263 (2014) 263ra158.

BROWN, M. A.; WEINBERG, R. B. - **Mast Cells and Innate Lymphoid Cells: Underappreciated Players in CNS Autoimmune Demyelinating Disease.** Frontiers in Immunology. 9 (2018) 514.

BURNARD, S.; LECHNER-SCOTT, J.; SCOTT, R. J. - **EBV and MS: Major cause, minor contribution or red-herring?** Multiple Sclerosis and Related Disorders. 16 (2017) 24-30.

BUSCARINU, M. C.; ROMANO, S.; MECHELLI, R.; UMETON, R. P.; FERRALDESCHI, M.; FORNASIERO, A.; RENIÈ, R.; CERASOLI, B.; MORENA, E.; ROMANO, C.; LOIZZO, N. D.; UMETON, R.; SALVETTI, M.; RISTORI, G. - **Intestinal Permeability in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis.** Neurotherapeutics. 15, 1 (2018) 68-74.

CAPORRO, M.; DISANTO, G.; GOBBI, C.; ZECCA, C. - **Two decades of subcutaneous glatiramer acetate injection: current role of the standard dose, and new high-dose low-frequency glatiramer acetate in relapsing-remitting multiple sclerosis treatment.** Patient Preference and Adherence. 8 (2014) 1123-1134.

CNFT, Comissão Nacional de Farmácia e Terapêutica - **Utilização de fármacos para o tratamento da esclerose múltipla.** 2017.

DANEMAN, R.; PRAT, A. - **The Blood-Brain Barrier.** Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. 7, 1 (2015) a020412.

DENDROU, C. A.; FUGGER, L.; FRIESE, M. A. - **Immunopathology of multiple sclerosis.** Nature Reviews Immunology. 15, 9 (2015) 545-558.

DENDROU, C. A.; FUGGER, L. - **Please mind the gap: axonal transport deficits in multiple sclerosis neurodegeneration.** Neuron. 84, 6 (2014) 1105-1107.

DGS, Direção-Geral da Saúde - **Terapêutica Modificadora da Esclerose Múltipla em Idade Pediátrica e no Adulto.** 2015.

EMA, European Medicines Agency - **Aubagio: Resumo das Características do Medicamento.** 2013b.

EMA, European Medicines Agency - **EMA review of Zinbryta confirms medicine's risks outweigh its benefits.** EMA/286850/2018. London: EMA, 2018b.

EMA, European Medicines Agency - **Extavia: Resumo das Características do Medicamento.** 2008.

EMA, European Medicines Agency - **Fampyra: Resumo das Características do Medicamento.** 2011a.

EMA, European Medicines Agency - **Find medicine: Human Medicines, Multiple Sclerosis**. [Acedido a 16 de junho de 2018]. Disponível na Internet: [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages%2Fmedicines%2Flanding%2Fepar\\_search.jsp&mid=WC0b01ac058001d124&searchTab=&alreadyLoaded=true&isNewQuery=true&status=Authorised&status=Withdrawn&status=Suspended&status=Refused&keyword=Enter+keywords&searchType=name&taxonomyPath=Diseases.Nervous+System+Diseases.Demyelinating+Diseases.Demyelinating+Autoimmune+Diseases%2C+CNS&treeNumber=&currentCategory=Multiple+Sclerosis&searchGenericType=generics](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages%2Fmedicines%2Flanding%2Fepar_search.jsp&mid=WC0b01ac058001d124&searchTab=&alreadyLoaded=true&isNewQuery=true&status=Authorised&status=Withdrawn&status=Suspended&status=Refused&keyword=Enter+keywords&searchType=name&taxonomyPath=Diseases.Nervous+System+Diseases.Demyelinating+Diseases.Demyelinating+Autoimmune+Diseases%2C+CNS&treeNumber=&currentCategory=Multiple+Sclerosis&searchGenericType=generics)

EMA, European Medicines Agency - **Gilenya: Resumo das Características do Medicamento**. 2011b.

EMA, European Medicines Agency - **Guideline on clinical investigation of medicinal products for the treatment of Multiple Sclerosis**. EMA/CHMP/771815/2011, Rev. 2. London: EMA, 2015.

EMA, European Medicines Agency - **Lemtrada: Resumo das Características do Medicamento**. 2013a.

EMA, European Medicines Agency - **Ocrevus: Resumo das Características do Medicamento**. 2018a.

EMA, European Medicines Agency - **Questions and answers on Novantrone and associated names (mitoxantrone 2 mg/ml concentrate for solution for infusion)**. EMA/55368/2016, Rev. I. London: EMA, 2016.

EMA, European Medicines Agency - **Refusal of the marketing authorisation for Nervertra (laquinimod)**. EMA/311892/2014. London: EMA, 2014b.

EMA, European Medicines Agency - **Tecfidera: Resumo das Características do Medicamento**. 2014a.

EMA, European Medicines Agency - **Tysabri: Resumo das Características do Medicamento**. 2006.

ENGELHARDT, B.; RANSOHOFF, R. M. - **Capture, crawl, cross: the T cell code to breach the blood-brain barriers**. Trends in Immunology. 33, 12 (2012) 579-589.

ENGELHARDT, B.; VAJKOCZY, P.; WELLER, R. O. - **The movers and shapers in immune privilege of the CNS.** Nature Immunology. 18, 2 (2017) 123-131.

ENRY, D.; ANGELIS, A. L. H.; JAITIN, D.; WIEGHOFER, P.; STASZEWSKI, O.; DAVID, E.; KEREN-SHAUL, H.; MAHLAKOIV, T.; JAKOBSHAGEN, K.; BUCH, T.; SCHWIERZECK, V.; UTERMÖHLEN, O.; CHUN, E.; GARRET, W. S.; MCCOY, K. D.; DIEFENBACH, A.; STAEHELI, P.; STECHER, P.; AMIT, I.; PRINZ, M. - **Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS.** Nature Neuroscience. 18, 7 (2015) 965-977.

GARG, N.; SMITH, T. W. - **An update on immunopathogenesis, diagnosis, and treatment of multiple sclerosis.** Brain and Behavior. 5, 9 (2015) e00362.

GOURRAUD, P. A.; KHANKHANIAN, P.; CEREB, N.; YANG, S. Y.; FEOLO, M.; MAIERS, M.; RIOUX, J. D.; HAUSER, S.; OKSENBERG, J. - **HLA diversity in the 1000 genomes dataset.** PLoS ONE. 9, 7 (2014) e97282.

GRIGORIADIS, N.; PESCH, V. V. - **A basic overview of multiple sclerosis immunopathology.** European Journal of Neurology. 22, Suppl. 2 (2015) 3-13.

GROVES, N. J.; MCGRATH, J. J.; BURNE, T. H. J. - **Vitamin D as a Neurosteroid Affecting the Developing and Adult Brain.** Annual Review of Nutrition. 34, 1 (2014) 117-141.

HASSANI, A.; CORBOY, J. R.; AL-SALAM, S.; KHAN, G. - **Epstein-Barr virus is present in the brain of most cases of multiple sclerosis and may engage more than just B cells.** PLoS ONE. 13, 2 (2018) 1-19.

HEDSTRÖM, A. K.; BOMFIM, I. L.; BARCELLOS, L. F.; BRIGGS, F.; SCHAEFER, C.; KOCKUM, I.; OLSSON, T.; ALFREDSSON, L. - **Interaction between passive smoking and two HLA genes with regard to multiple sclerosis risk.** International Journal of Epidemiology. 43, 6 (2014) 1791-1798.

HOLICK, M. F. - **Vitamin D and brain health: the need for vitamin D supplementation and sensible sun exposure.** Journal of Internal Medicine. 277, 1 (2015) 90-93.

INFARMED, Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. - **Mitoxantrona Accord: Resumo das Características do Medicamento.** 2017.

INFARMED, Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. - **Sativex: Resumo das Características do Medicamento.** 2012.

JAGOT, F.; DAVOUST, N. - **Is it worth considering circulating microRNAs in multiple sclerosis?** *Frontiers in Immunology*. 7 (2016) 129.

KASPER, L. H.; SHOEMAKER, J. - **Multiple sclerosis immunology: The healthy immune system vs the MS immune system.** *Neurology*. 74, Suppl. 1 (2010) S2-S8.

KEANEY, J.; CAMPBELL, M. - **The dynamic blood-brain barrier.** *FEBS Journal*. 282, 21 (2015) 4067–4079.

KOOIJ, G.; MIZEE, M. R.; HORSSSEN, J. V.; REIJERKERK, A.; WITTE, M. E.; DREXHAGE, J. A. R.; POL, S. M. A. V. D.; HOF, B. V. H.; SCHEFFER, G.; SCHEPER, R.; DJIKSTRA, C. D.; VALK, P. V. D.; VRIES, H. E. D. - **Adenosine triphosphate-binding cassette transporters mediate chemokine (C-C motif) ligand 2 secretion from reactive astrocytes: relevance to multiple sclerosis pathogenesis.** *Brain*. 134, 2 (2011) 555-570.

LANZ, T. V.; BECKER, S.; OSSWALD, M.; BITTNER, S.; SCHUHMANN, M. K.; OPITZ, C. A.; GAIKWAD, S.; WIESTLER, B.; LITZENBURGUER, U. M.; SAHM, F.; OTT, M.; IWANTSCHIEFF, S.; GRABITZ, C.; MITTELBRONN, M.; DEIMLING, A. V.; WINKLER, F.; MEUTH, D. G.; WICK, W.; PLATTEN, M. - **Protein kinase C $\beta$  as a therapeutic target stabilizing blood-brain barrier disruption in experimental autoimmune encephalomyelitis.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 110, 36 (2013) 14735-14740.

LOGSDON, A. F.; ERICKSSON, M. A.; RHEA, E. M.; SALAMEH, T. S.; BANKS, W. A. - **Gut reactions: How the blood-brain barrier connects the microbiome and the brain.** *Experimental Biology and Medicine*. 243, 2 (2017) 159-165.

LOMA, I.; HEYMAN, R. - **Multiple Sclerosis: Pathogenesis and Treatment.** *Current Neuropharmacology*. 9, 3 (2011) 409–416.



LUBLIN, F. D.; REINGOLD, S. C.; COHEN, J. A.; CUTTER, G. R.; SORENSEN, P. S.; THOMPSON, A. J.; WOLINSKY, J. S.; BALCER, L. J.; BANWELL, B.; BARKHOF, F.; BEBO, B.; CALABRESI, P. A.; CLANET, M.; COMI, G.; FOX, R. J.; FREEDMAN, M. S.; GOODMAN, A. D.; INGLESE, M.; KAPPOS, L.; KIESEIER, B. C.; LINCOLN, J. A.; LUBETZKI, C.; MILLER, A. E.; MONTALBAN, X.; O'CONNOR, P. W.; PETKAU, J.; POZZILLI, C.; RUDICK, R. A.; SORMANI, M. P.; STRÜVE, O.; WAUBANT, E.; POLMAN, C. H. - **Defining the clinical course of multiple sclerosis: The 2013 revisions.** American Academy of Neurology. 83, 3 (2014) 278-286.

MALLUCCI, G.; PERUZZOTTI-JAMETTI, L.; BERNSTOCK, J. D.; PLUCHINO, S. - **The role of immune cells, glia and neurons in white and gray matter pathology in multiple sclerosis.** Progress in Neurobiology. 127-128 (2015) 1-22.

MSIF, Multiple Sclerosis International Federation - **Atlas of MS 2013: Mapping Multiple Sclerosis Around the World.** London: MSIF, 2013.

MS SOCIETY UK, Multiple Sclerosis Society UK (a) - **Benign MS.** [Acedido a 4 de março de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.mssociety.org.uk/what-is-ms/types-of-ms/benign-ms>.

MS SOCIETY UK, Multiple Sclerosis Society UK (b) - **Physiotherapy.** [Acedido a 10 de junho de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.mssociety.org.uk/about-ms/treatments-and-therapies/physiotherapy>.

NATIONAL MS SOCIETY, National Multiple Sclerosis Society (a) - **MS Symptoms.** [Acedido a 24 de fevereiro de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.nationalmssociety.org/Symptoms-Diagnosis/MS-Symptoms>.

NATIONAL MS SOCIETY, National Multiple Sclerosis Society (b) - **Clinically Isolated Syndrome (CIS).** [Acedido a 25 de fevereiro de 2018]. Disponível na Internet: [https://www.nationalmssociety.org/What-is-MS/Types-of-MS/Clinically-Isolated-Syndrome-\(CIS\)](https://www.nationalmssociety.org/What-is-MS/Types-of-MS/Clinically-Isolated-Syndrome-(CIS)).

NATIONAL MS SOCIETY, National Multiple Sclerosis Society (c) - **Relapsing-remitting MS (RRMS).** [Acedido a 25 de fevereiro de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.nationalmssociety.org/What-is-MS/Types-of-MS/Relapsing-remitting-MS>.

NATIONAL MS SOCIETY, National Multiple Sclerosis Society (d) - **Secondary progressive MS (SPMS)**. [Acedido a 25 de fevereiro de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.nationalmssociety.org/What-is-MS/Types-of-MS/Secondary-progressive-MS>.

NATIONAL MS SOCIETY, National Multiple Sclerosis Society (e) - **Primary progressive MS (PPMS)**. [Acedido a 25 de fevereiro de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.nationalmssociety.org/What-is-MS/Types-of-MS/Primary-progressive-MS>.

NATIONAL MS SOCIETY, National Multiple Sclerosis Society (f) - **Progressive-relapsing MS (PRMS)**. [Acedido a 4 de março de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.nationalmssociety.org/What-is-MS/Types-of-MS/Progressive-relapsing-MS>.

NATIONAL MS SOCIETY, National Multiple Sclerosis Society (g) - **Types of MS**. [Acedido a 8 de julho de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.nationalmssociety.org/What-is-MS/Types-of-MS>.

NATIONAL MS SOCIETY, National Multiple Sclerosis Society (h) - **Rehabilitation**. [Acedido a 31 de maio de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.nationalmssociety.org/Treating-MS/Rehabilitation>.

NICHOLAS, R.; RASHID, W. - **Multiple sclerosis**. *American Family Physician*. 87, 10 (2013) 712-714.

NOURI, M.; BREDBERG, A.; WESTRÖM, B.; LAVASANI, S. - **Intestinal barrier dysfunction develops at the onset of experimental autoimmune encephalomyelitis, and can be induced by adoptive transfer of auto-reactive T cells**. *PLoS ONE*. 9, 9 (2014) e106335.

ORTIZ, G. G.; PACHECO-MOISÉS, F. P.; MACÍAS-ISLAS, M. A.; FLORES-ALVARADO, L. J.; MIRELES-RAMÍREZ, M. A.; GONZÁLEZ-RENOVATO, E. D.; HERNÁNDEZ-NAVARRO, V. E.; SÁNCHEZ-LÓPEZ, A. L.; ALATORRE-JIMÉNEZ, M. A. - **Role of the Blood-Brain Barrier in Multiple Sclerosis**. *Archives of Medical Research*. 45, 8 (2014) 687-697.

PALMER, A. M. - **Pharmacotherapy for multiple sclerosis: progress and prospects**. *Current Opinion in Investigational Drugs*. 10, 5 (2009) 407–417.

ROMMER, P. S.; DUDESEK, A.; STÜVE, O.; ZETTL, U. K. - **Monoclonal antibodies in treatment of multiple sclerosis.** *Clinical and Experimental Immunology.* 175, 3 (2014) 373-384.

ROMMER, P. S.; ZETTL, U. K. - **Managing the side effects of multiple sclerosis therapy: pharmacotherapy options for patients.** *Expert Opinion on Pharmacotherapy.* 19, 5 (2018) 483-498.

ROTHHAMMER, V.; MASCANFRONI, I. D.; BUNSE, L.; TAKENAKA, M. C.; KENISON, J. E.; MAYO, L.; CHAO, C.; PATEL, B.; YAN, R.; BLAIN, M.; ALVAREZ, J. I.; KÉBIR, H.; ANANDASABAPATHY, N.; IZQUIERDO, G.; JUNG, S.; OBHOLZER, N.; POCHET, N.; CLISH, C. B.; PRINZ, M.; PRAT, A.; ANTEL, J.; QUINTANA, F. J. - **Type I interferons and microbial metabolites of tryptophan modulate astrocyte activity and CNS inflammation via the aryl hydrocarbon receptor.** *Nature Medicine.* 22, 6 (2016) 586-597.

RUBTSOVA, K.; MARRACK, P.; RUBTSOV, A. V. - **Sexual dimorphism in autoimmunity.** *The Journal of Clinical Investigation.* 125, 6 (2015) 2187-2193.

SCHENK, G. J.; VRIES, H. E. D. - **Altered blood-brain barrier transport in neuro-inflammatory disorders.** *Drug Discovery Today: Technologies.* 20 (2016) 5–11.

SHOEMAKER, T. J.; MOWRY, E. M. - **A review of vitamin D supplementation as disease-modifying therapy.** *Multiple Sclerosis Journal.* 24, 1 (2018) 6–11.

SPEM, Sociedade Portuguesa de Esclerose Múltipla - **Sintomas de EM.** [Acedido a 24 de fevereiro de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.spem.pt/esclerose-multipla/sintomas>.

STYS, P. K.; ZAMPONI, G. W.; MINNEN, J. V.; GEURTS, J. J. G. - **Will the real multiple sclerosis please stand up?** *Nature Reviews Neuroscience.* 13, 7 (2012) 507-514.

TAO, C.; JR, S. S.; MEI, I. V. D.; BLIZZARD, L.; HAVRDOVA, E.; HORAKOVA, D.; SHAYGANNEJAD, V.; LUGARES, A.; IZQUIERDO, G.; TROJANO, M.; DUQUETTE, P.; GIRARD, M.; GRAND'MAISON, F.; GRAMMOND, P.; ALROUGHANI, R.; TERZI, M.; OREJA-GUEVARA, C.; SAJEDI, S. A.; IULIANO, G.; SOLA, P.; LECHNER-SCOTT, J.; PESCH, V. V.; PUCCI, E.; BERGAMASCHI, R.; BARNETT, M.; RAMO, C.; SINGHAL, B.; SPITALERI, D. L.; SLEE, M.; VERHEUL, F.; BOLAÑOS, R. F.; AMATO, M. P.; CRISTIANO, E.;

GRANELLA, F.; HODGKINSON, S.; FIOL, M.; GRAY, O.; MCCOMBE, P.; SALADINO, M. L.; MENOYO, J. L. S.; SHUEY, N.; VUCIC, S.; SHAW, C.; DERI, N.; ARRUDA, W. O.; BUTZKUEVEN, H.; SPELMAN, T.; TAYLOR, B. V. - **Higher latitude is significantly associated with an earlier age of disease onset in multiple sclerosis.** Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry. 87, 12 (2016) 1343–1349.

TSAI, S.; SANTAMARIA, P. - **MHC class II polymorphisms, autoreactive T-cells, and autoimmunity.** Frontiers in Immunology. 4, 321 (2013) 1-7.

VENDEL, E.; LANGE, E. C. M. D. - **Functions of the CB1 and CB2 Receptors in Neuroprotection at the Level of the Blood–Brain Barrier.** NeuroMolecular Medicine. 16, 3 (2014) 620–642.

WINGERCHUK, D. M. - **Smoking: effects on multiple sclerosis susceptibility and disease progression.** Therapeutic Advances in Neurological Disorders. 5, 1 (2012) 13-22.

YADAV, S. K.; MINDUR, J. E.; ITO, K.; DHIB-JALBUT, S. - **Advances in the immunopathogenesis of multiple sclerosis.** Current Opinion in Neurology. 28, 3 (2015) 206–219.

ZÉPHIR, H. - **Progress in understanding the pathophysiology of multiple sclerosis.** Revue Neurologique. 174, 6 (2018) 358–363.