UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Rui Daniel Maia Alves

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada "Doença de Fabry: Etiologia e Novas Terapêuticas" referentes à Unidade Curricular "Estágio", sob a orientação, respetivamente, da Dra. Ana Jerónimo, do Dr. Sebastião Peixoto e do Professor Doutor Luís Miguel Santos Loura e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2018

Rui Daniel Maia Alves

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada "Doença de Fabry: Etiologia e Novas Terapêuticas" referentes à Unidade Curricular "Estágio", sob a orientação, da Dra. Ana Jerónimo, do Dr. Sebastião Peixoto e do Professor Doutor Luís Miguel Santos Loura e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestaçãode provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2018

· U C ·

UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Rui Daniel Maia Alves, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2013133607, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada "A Doença de Fabry: Etiologia e Novas Terapêuticas" apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 06 de setembro de 2018.

Rui Daniel Maia Alves

Agradecimentos

Gostava de agradecer, aos meus pais pelo tempo e economias investidas em mim, porque sempre acreditaram nas minhas capacidades, mesmo nos momentos mais difíceis.

Aos meus avós paternos e maternos, agradeço o apoio e preocupação na obtenção de êxito nos meus estudos;

Ao meu irmão Gabriel Alves e à Andreia Lopes, um sincero obrigado por me terem acolhido na cidade dos estudantes, pela vossa paciência e pelos vossos valiosos conselhos.

Agradeço à mulher dos olhos verdes, Mariana Anacleto, por todo o apoio que me deu, por me ter colocado na linha com os seus conselhos e me ter mostrado que Coimbra não me deu só conhecimento, mas também um amor, uma amiga, uma companheira;

Ao Luís Gama, agradeço os tempos bem passados nesta cidade, as horas de confidências e de estudo partilhadas, o resto, não vale a pena referir aqui;

Ao Pedro Lima, André Lemos, Eduardo Ferreira (Boss), Francisco Silva (Chiquinho), um obrigado, por me terem apoiado em todos os fins de semana que voltava a casa e acima de tudo, pelos ensinamentos e gargalhadas partilhadas;

Um obrigado à equipa da Farmácia Peixoto, ao Dr. Sebastião Peixoto, à Dr.ª Rita Peixoto, à Dr.ª Isabel Ferreira, ao César Barros e à Dr.ª Sandra, pelos ensinamentos partilhados;

Gostaria de agradecer à equipa da Bluepharma que me acolheu de uma forma única, em especial à Ana Jerónimo, ao Tobias Silva, à Margarida Neves, ao Carlos Andrade, à Vanda Vicente, ao Daniel Santos, ao Diogo Teixeira, à Nancy Escada, à Carolina Pires e à Patrícia Freitas;

Gostava de agradecer ao Professor Doutor Luis Loura, pelas horas investidas na minha monografia e à Doutora Olga Azevedo, que me ajudou a compreender melhor a Doença de Fabry;

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, incluindo o corpo docente e não docente, um sincero obrigado, por terem contribuído ativamente para a pessoa que sou hoje.

Por fim, um obrigado a todos aqueles que de uma forma ou de outra, contribuíram ativamente para o meu sucesso, que partilharam as salas de aula comigo, espero um dia retribuir parte do todo o apoio e carinho demonstrado.

Índice

Resumo I

Abstract II

Índice de Figuras e Tabelas III

Abreviaturas IV

Parte I – Doença de Fabry: etiologia e novas terapêuticas

I. Introdução 1

2. Epidemiologia 2

3. Descrição clínica 3

3.1. Sinais e sintomas 4

3.2. Envolvimento renal 6

3.3. Variante Intermédia 6

3.4. Envolvimento cardíaco 6

4. Etiologia 7

5. Diagnóstico 8

5.1. Diagnóstico bioquímico 10

5.1.1 Ensaios enzimáticos 10

5.1.2 Globotrasilceramida (Gb_3) 10

5.2. Sequenciação do gene GLA e rastreios 10

5.3. Marcadores auxiliares e biomarcadores 11

5.4. Histopatologia 12

6. Diagnóstico diferencial 12

7. Diagnóstico pré-natal 13

8. Aconselhamento genético 13

9. Tratamento médico convencional e terapias adjuvantes 13

9.1. Lesões cutâneas 14

9.2. Sintomas neurológicos 14

9.3. Sintomas cócleo-vestivulares 15

9.4. Sintomas gastrointestinais 15

9.5. Sintomas respiratórios 15

9.6. Envolvimento ósseo 15

9.7. Envolvimento renal 15

9.8. Envolvimento cardíaco 16

9.9. Envolvimento cerebrovascular 16

9.10. Medidas profiláticas 17

10. Terapia de substituição enzimática 17

10.1. Estudos comparativos entre agalsidase alfa e agalsidase beta 18
10.2. Algumas considerações sobre a administração da TSE 19
11. Nova abordagem terapêutica: Migalastat 20
11.1. Estudo comparativo entre o migalastat e TSE 21
12. Prognóstico 21
13. Perspetivas futuras 22
13.1. Antagonistas da glicosilceramida sintetase 22
13.2. Pegunigalsidase Alfa (PRX-102) 22
13.3. Tecnologia CodeEvolver® (Codexis) 23
13.4. Terapia genética 23
13.4.1. Estudos desenvolvidos pela Sangamo Biosciences 24
13.4.2. Transplante de células estaminais CD34+ 25
14. Conclusão 26

Parte II – Relatório de estágio curricular em farmácia comunitária

1. Introdução 34
2. A Farmácia Peixoto 35
3. Análise SWOT 36
3.1. Pontos Fortes 36
3.1.1. Equipa e ambiente familiar 36
3.1.2. Autonomia 36
3.1.3. Serviços diferenciados 37
3.1.4. Integração num grupo de compras 37
3.2. Pontos Fracos 37
3.2.1. Produtos de uso veterinário e dermocosmética 37
3.2.2. Aposta na formação contínua 37
3.2.3. Sistema de senhas 38
3.2.4. Medicamentos manipulados 38
3.2.5. Desconhecimento dos nomes comerciais dos medicamentos 38
3.2.6. Medição de parâmetros bioquímicos 38
3.2.7. Ausência de *robot* 38
3.3. Oportunidades 39
3.3.1. Produtos de uso veterinário e dermocosmética 39
3.3.2. Redes Sociais 39
3.3.3. Melhorar a oferta aos utentes e aposta em produtos inovadores 40
3.3.4. Horário de funcionamento 40
3.4. Ameaças 40
3.4.1. Abertura de novas lojas e parafarmácias 40
3.4.2. Rutura de *stocks* 41
3.4.3. Automedicação 42
4. Conclusão 42

Parte III – Relatório de estágio curricular em indústria farmacêutica

1. Introdução 45

2. Departamento de desenvolvimento de negócio 46

3. Análise SWOT 47

3.1. Pontos Fortes 47

3.1.1. Reconcepção e ambiente 48
3.1.2. Equipa do departamento de desenvolvimento de negócio 48
3.1.3. Formação contínua 49

3.2. Pontos Fracos 49

3.2.1. Conhecimento da indústria farmacêutica 49
3.2.2. Cantina e estacionamento 49

3.3. Oportunidades 49

3.3.1. Reconcepção e ambiente 50
3.3.2. Nova área industrial da Bluepharma 50
3.3.3. Divulgação do trabalho desenvolvido junto da comunidade 50

3.4. Ameaças 51

3.4.1. Multinacionais 51
3.4.2. Infraestruturas 51
3.4.3. Trabalho no departamento de desenvolvimento de negócios 51

4. Conclusão 52

Resumo

Numa sociedade altamente evoluída, em que maioria da população possui acesso livre a uma grande variedade de fontes de informação e tecnologias, existem patologias que ainda permanecem totalmente desconhecidas para maioria das pessoas. As Doenças Lisossomais de Recarga, onde se incluí a Doença de Fabry (DF), são um verdadeiro exemplo disso.

A DF, é uma patologia rara e progressiva, afetando homens e mulheres de todas as idades e etnias. A sua transmissão está intimamente ligada a um conjunto de mutações que ocorrem no gene codificador da enzima α-galactosidase A o gene GLA, que se localiza no cromossoma X. Os portadores desta patologia não apresentam atividade enzimática da α-gal A ou esta encontra-se diminuída, resultando numa acumulação progressiva da globotriaosilceramida e do seu derivado desacetilado, a globotriaosilesfingosina, nos lisossomas. A presença dos lisossomas numa grande variedade de células, incluindo células endoteliais, renais, neuronais, cardíacas e nervosas, resultam na manifestação de um quadro clínico muito abrangente, incluindo vários sistemas e órgãos, entre eles o sistema cardiovascular, cócleo-vestibular, cerebrovascular, renal, cutâneo e neurológico.

O diagnóstico a partir da avaliação da atividade enzimática da α-gal A, pode por vezes ser inconclusivo e só depois recorrendo à sequenciação do DNA é possível o diagnóstico final. O diagnóstico pré-natal é também possível realizando a avaliação da atividade enzimática da α-gal A ou sequenciação do DNA, diretamente a partir do vilo corial ou em cultura celular de células amnióticas, mas têm sido recentemente levantadas questões éticas.

O uso da terapia convencional é considerada fulcral, porque recorrendo a um conjuntos de medicamentos que englobam analgésicos (alivio da dor), nefroprotetores, agentes antiarrítmicos, entre outros, permitem atuar sobre os órgãos/sistemas afetados. O uso de medidas profiláticas (farmacológicas ou não) é importante na melhoria na qualidade de vida do doente e na prevenção da ocorrência de eventos graves. A terapia de substituição enzimática, tem fornecido evidências crescentes de que que é eficaz contra a progressão da doença, aliada à possibilidade do uso oral das *chaperones* em formas suscetíveis da doença.

No futuro será importante a realização de estudos com uma maior abrangência amostral, onde deve ser realizado um acompanhamento desde a confirmação do diagnóstico até à última toma. Este *follow-up* irá permitir um conhecimento mais profundo sobre a implicação da terapêutica específica da doença no decurso progressivo da mesma, bem como a avaliação da sua eficácia real. Por outro lado, novos estudos ligados à terapia génica estão a ser desenvolvidos, permitindo olhar de uma forma otimista para o futuro.

Abstract

In a highly evolved society, with access to a wide variety of information and technologies, there are pathologies that remain totally unknown for most people. Lysosomal Storage Disorders, which include Fabry Disease (DF), are a true example of this.

DF is a rare and progressive condition, affecting men and women of all ages and ethnicities. Its transmission is closely linked to a set of mutations that occur in the gene encoding α-galactosidase A, the GLA gene, located on the X chromosome. The carriers of this pathology have no enzymatic activity of α-gal A or it is diminished, resulting in a progressive accumulation of globotriaosylceramide and its deacetylated derivative galabiosylceramide, in the lysosomes. The presence of lysosomes in many cell types, such as endothelial, renal, neural, cardiac and nerve cells results in the manifestation of a widespread type of symptoms, including several systems and organs, such as cardiovascular, renal, cochlear-vestibular, cerebrovascular, cutaneous and neurological.

The diagnosis based on the evaluation of the enzymatic activity of α-gal A can sometimes be inconclusive, and only after the sequencing of DNA the final diagnosis is made. Prenatal diagnosis is also possible by performing an evaluation of the enzymatic activity of α-gal A or DNA sequencing, directly from the chorionic villus, or in cultured amniotic cells, but ethical issues have been raised lately.

The use of conventional therapy is the general rule, because the use of a set of drugs that include analgesics (pain relief), nephroprotectors, and antiarrhythmic agents, among others, allows to act on the affected organs/systems. The use of prophylactic measures (pharmacological or not) is important in improving patient quality of life and in preventing serious injury. Enzyme replacement therapy can deal effectively with disease progression, coupled with the possibility of oral use of chaperones in susceptible forms to the disease.

In the future, it will be important to carry out studies with a greater sample coverage, carried out following the diagnosis until the present day This follow-up will allow a deeper understanding of the implication of disease-specific therapy in the progressive course of the disease, as well as an evaluation of its actual efficacy. On the other hand, new studies linked to gene therapy are being developed, potentially providing an optimistic outlook for the future.

Índice de Figuras

Figura 1 – Casos de DLS em tratamento com as terapêuticas disponíveis 3
Figura 2 – Locais mais comuns para o surgimento de angioqueratomas 5
Figura 3 – Processos catabólicos realizados pela α-gal A 8
Figura 4 – Organograma resumo, em que permite obter uma relação entre os sinais e/ou sintomas, com o género e tipo de diagnóstico a realizar 9
Figura 5 – Mecanismo de ação proposto para o Migalastat 20
Figura 6 – Mecanismo de otimização enzimática 23
Figura 7 – Terapêuticas genéticas propostas na abordagem da DF..... 24

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Resumo dos Sintomas e Sinais que afetam adultos e crianças com DF 3
Tabela 2 – Diagnósticos diferenciais comuns a partir de sintomas de DF 12
Tabela 3 – Diretrizes para a examinação basal e follow-up dos pacientes com DF 14
Tabela 4 – Diretrizes atualmente propostas para a iniciação da terapêutica de substituição enzimática na DF..... 18

Abreviaturas

α-gal A – α-galactosidase A

AIT – Acidentes Isquémicos Transitórios

ARAs – Antagonistas dos Recetores da Angiotensina

AVC – Acidente Vascular Cerebral

CDI – Cardioversor Desfibrilhador Implantável

CDFI – Canadian Fabry Disease Initiative

DBS – *Dried Blood Spot*

DF – Doença de Fabry

cDNA – DNA complementar

ECG – Eletrocardiograma

Gb_3 – Globotriasilceramida

HK2 – Células de Rim Humano-2

HVE – Hipertrofia Ventricular Esquerda

HVD – Hipertrofia Ventricular Direita

IECAs – Inibidores da Enzima de Conversão da Angiotensina

IGMJM – Instituto de Genética Médica Jacinto Magalhães

IMVE – Índice de Massa Ventricular Esquerda

Lyso-Gb_3 – Globotriaosilesfingosina

RE – Retículo Endoplasmático

TFG – Taxa de Filtração Glomerular

TSE – Terapêutica de Substituição Enzimática

VAA – Vetores Adeno-Associados

I. Introdução

A doença de Fabry (DF) é uma Doença Lisossomal de Sobrecarga, hereditária, rara, causada por mutações no gene GLA, que se localiza no cromossoma X. É caracterizada por uma progressão clínica multissistémica, causada pela ausência ou déficit da atividade lisossomal da enzima α-galactosidase A (α-gal A) [1].

Esta deficiência metabólica resulta numa acumulação progressiva de um glicoesfingolípido, a globotriaosilceramida (Gb_3) e do seu derivado desacetilado, a globotriaosilesfingosina (lyso-Gb_3), nos lisossomas. Esta ocorre de uma forma lenta e progressiva, explicando assim a ausência de sintomas nos primeiros anos de vida [2,3]. Os lisossomas estão presentes num elevado número de células, incluindo células capilares endoteliais, renais, neuronais, cardíacas (cardiomiócitos e fibroblastos) e células nervosas [4].

O fenótipo clássico da doença, presente nos homens hemizigotos, caracteriza-se por ausência total da atividade enzimática da α-gal A. Durante a infância e adolescência, podem desenvolver-se alguns sintomas, que normalmente incluem dor neuropática, disfunção autonómica, desconforto gastrointestinal, angioqueratomas, hipohidrose e córnea verticillata. No decurso normal da doença, estes sintomas podem anteceder complicações mais severas, como disfunção renal e complicações a nível cerebrovascular e cardíacas, que podem culminar com acidentes cardiovasculares em idade jovem, hipertrofia ventricular esquerda, perda de qualidade de vida e morte prematura [5,6].

Os indivíduos que possuam atividade enzimática residual da α-gal A detêm uma maior tendência para o desenvolvimento da doença do tipo "*single organ*", que surge numa fase mais tardia e com fenótipos mais agressivos dos que foram estudados nas mulheres. Esta evidência levou à criação de três variantes. As variantes renal e cardiovascular são caracterizadas pelo envolvimento destes órgãos em isolado, não obrigatoriamente de uma forma multissistémica. Já na variante intermédia, os sintomas englobam os dois órgãos [7,8].

Foi também observado um quadro clínico muito abrangente nas mulheres heterozigotas. Estas podem ser afetadas com uma gravidade semelhante à dos homens, mas tendem a apresentar a doença de uma forma mais tardia, com envolvimento dos principais sistemas fisiológicos e perda de qualidade de vida [9].

A idade em que surgem os primeiros sintomas, os órgãos envolvidos, e o prognóstico da doença dependem diretamente do grau de deficiência da α-gal A, que por sua vez está

intimamente relacionada com o género do doente e com o tipo de inativação aleatória do cromossoma X [10].

Estão identificadas e descritas pelos menos 600 mutações responsáveis pela DF. Estas mutações são transmitidas pelo cromossoma X mutante do progenitor. Deste modo, quando a mãe está afetada, existe 50% de probabilidade de transmissão da mutação para os seus filhos. Por outro lado, no caso do pai, este transmite obrigatoriamente a mutação a todas as filhas e a nenhum dos seus filhos [11].

II. Epidemiologia

As Doenças Lisossomais de Sobrecarga, nas quais se inclui a DF, formam um conjunto de 50 doenças hereditárias, que estão intimamente ligadas a uma acumulação lisossomal de substratos não degradados [12].

Infelizmente, os dados obtidos são muito díspares e aliam a incidência das doenças num todo e não especificamente a DF. Variando entre 1 em 476.000 [12] e 1 em 117.000 [13] para a população em geral, a raridade da doença não permite a obtenção de dados que mostrem a prevalência real da doença. Estudos mais recentes, realizados em Itália e Taiwan, em recém-nascidos, indicaram valores inesperadamente altos (1 em cada 3.100 e aproximadamente 1 em cada 1.500 nascimentos, respetivamente). Estes números podem ser explicados pelo subdiagnóstico que existe, e sintomatologia muitas vezes confundida com doenças crónicas de origem cardíaca, cerebrovascular e renal [14, 15].

Em Portugal, estima-se que a prevalência conjunta das Doenças Lisossomais de Sobrecarga seja cerca de 1 em 4000 recém-nascidos. O Instituto de Genética Médica Jacinto Magalhães (IGMJM), no Porto, possui um papel fulcral na identificação destas doenças, fornecendo diagnósticos tanto pós e pré-natal. Em 2014, foram diagnosticados 133 doentes com DF (dados não publicados pelo IGMJM) [16, 46].

Foi possível, através das determinações realizadas neste Instituto, obter uma análise retrospetiva, da idade de diagnóstico, distrito de origem, e qual a principal manifestação clínica associada. Foram avaliados 80 pacientes, homens, pertencendo a 50 famílias distintas. A maior incidência foi obtida em Braga, numa média de idades entre os 46 anos, sendo que a mutação mais recorrente foi a p.F113L e tendo como base implicações cardíacas. Os dados recolhidos vão de encontro ao defendido por diferentes autores, que afirmam que esta mutação está associada a manifestações cardíacas tardias, e que normalmente são identificadas após uma requisição da avaliação cardíaca [17].

O Instituto Nacional de Saúde compilou os resultados obtidos de vários estudos de caracterização molecular (Figura 1), realizados durante uma década (2006-2016). Foi possível obter dados das causas moleculares destas DLSs e perceber em que medida a análise mutacional poderá ser útil num diagnóstico pré-natal, bem como no aconselhamento genético e num diagnóstico mais preciso [18].

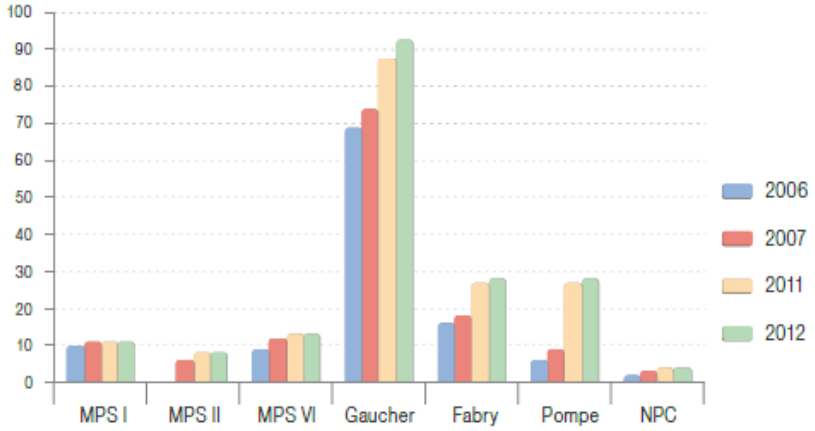

Figura 1 *– Casos de DLS em tratamento com as terapêuticas disponíveis. Legenda: MPS:Mucopolissacaridose; NPC1:Doença de Niemann-Pick (Adaptado de [18]).*

III. Descrição clínica

Durante anos, a DF era apenas associada ao homem adulto, em que este era afetado pelo fenótipo clássico e a atividade da α-gal A era considerada praticamente nula. Pensava-se que as mulheres heterozigotas eram portadoras assintomáticas do gene mutante. Nos dias de hoje, as mulheres portadoras DF são consideradas um grupo de risco de incidência de implicações em órgãos *major*, podendo estes sinais e sintomas surgirem mais tarde. A DF é presentemente vista como uma doença que não escolhe idades, nem género e envolve vários sistemas, sinais e sintomas (Tabela 1) [19].

Tabela 1 *– Resumo dos Sintomas e Sinais que afetam adultos e crianças com DF (Adaptado de [2]).*

Orgão/Sistema	**Sintomas**
Sistema Nervoso	Acroparestesias; Intolerância ao calor Perda de audição, acufenos
Trato Gastrointestinal	Náusea, vómitos, diarreia, dor abdominal pós-prandial, Saciedade precoce, dificuldade no aumento de peso
Pele	Angioqueratomas; Hipohidrose
Olhos	Vasculopatias (retina, conjuntiva); Tortuosidades
Rins	Microalbuminúria, proteinúria, isostenúria Hiperfiltração; Aumento da excreção urinária de Gb_3
Coração	Arritmias, palpitações, dispneia, angor Anormalidades presentes no ECG Insuficiência valvular aórtica e mitral Alterações na frequência cardíaca

3.1 – **Sinais e sintomas**

A dor é um dos primeiros sintomas da DF, que normalmente surge mais cedo em rapazes do que em raparigas, e possui duas vertentes [20]. A vertente episódica carateriza-se por uma dor agonizante e sensação de ardimento. Tem origem nas extremidades do corpo, propagando-se de seguida. Esta vertente pode ser despoletada por outros fatores, como a febre, o cansaço, o *stress* e grandes amplitudes térmicas. A segunda vertente, crónica, é caracterizada pelo surgimento de acroparestesias, em que o doente fica com uma sensação de dor ardente e formigueiro constante, que normalmente surge durante a infância e perdura até à vida adulta. Os sintomas neurológicos foram considerados os mais comuns e precoces [21].

Foram reportados casos de disfunção vestibular e auditiva, associada a vertigens, acufenos e perda de audição progressiva. Este acontecimento foi observado em crianças e adultos, de ambos os géneros [22].

No sistema cerebrovascular, a ocorrência de oclusões, na micro e macro vasculatura podem despoletar acidentes isquémicos transitórios (AIT), acidentes vasculares cerebrais (AVC), isquémico e hemorrágico, e lesões na substância branca. A incidência de AVCs em doentes com DF é superior à da população em geral e ocorre em maior percentagem em homens (entre os 40 e 50 anos), constituindo, em conjunto com as com as complicações cardiovasculares, a principal causa de morte na DF [23].

A indisposição gastrointestinal, acompanhada por dor abdominal pós-prandial, náuseas, saciedade precoce, vómitos e diarreia, pode ser uma manifestação da DF. Muitas vezes estes sintomas são erroneamente associados a outras patologias, camuflando assim a deposição de Gb_3 nos gânglios autonómicos dos vasos sanguíneos intestinais e mesentéricos [24,25].

A nível ocular, é possível identificar alterações ao nível da córnea (*cornea verticillata*). Estas alterações raramente influenciam a acuidade visual, mas são facilmente detetadas por um biomicroscópio ocular. A presença, tortuosidades e aneurismas vasculares retinianos são também comuns [26,27].

A hipohidrose (diminuição da sudação) é um dos sinais mais comuns e identificado pelos doentes. Normalmente associada à pele seca está também a intolerância ao calor e exercício físico, assim como o surgimento de febre sem causa aparente [1]. Estudos realizados propõem que a ocorrência de hipohidrose seja um efeito secundário da

acumulação de Gb_3 nas células endoteliais da derme inferior, incluindo as que circundam as glândulas sudoríparas écrinas. Esta acumulação excessiva pode resultar numa oclusão do lúmen vascular, reduzindo assim o aporte sanguíneo e nutritivo destas glândulas, causando uma disfunção ao nível da sudação [28, 29].

O surgimento de angioqueratomas (lesões cutâneas), com uma cor variável, do vermelho ao preto, que se localizam preferencialmente nas virilhas, no umbigo, nas nádegas e parte superior da coxa (Figura 2) representam uma das manifestações clínicas mais precoces e com maior impacto visual. Com o avanço da doença, as mucosas também podem ser afetadas, preferencialmente a mucosa oral. Podem apresentar-se isoladamente ou em aglomerados. Histologicamente, é possível identificar a presença de angiomas superficiais originados por danos progressivos nas células do endotélio vascular, resultando assim numa dilatação do vaso sanguíneo da derme superior (Figura 2.E) [30].

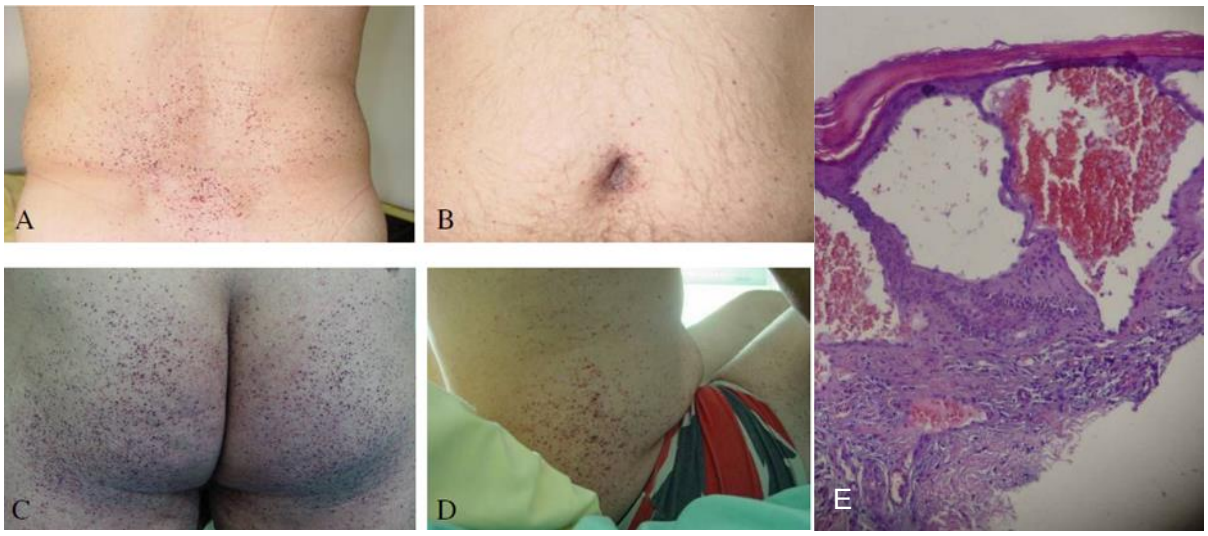

Figura 2 *– Locais mais comuns para o surgimento de angioqueratomas em aglomerados, na zona inferior das costas (A), nádegas (C), lateralmente (D) ou restringido a uma área limitada, como o umbigo (B). Imagem obtida por microscópio ótico, indica-nos, que a lesão na pele é um angioma superficial (E). (Adaptado de [2]).*

Ligado ao foro psiquiátrico, é importante referir que a depressão é um problema real associada a esta patologia, responsável pela diminuição da qualidade de vida [31].

Noutros estudos foram referidos problemas do foro ósseo, nomeadamente a ocorrência de fraturas espontâneas na zona lombar, associada à osteoporose e ao fenótipo clássico da doença [32].

No que toca ao sistema respiratório, é frequente a presença de dispneia, associada a tosse crónica e sibilância. Foi demonstrado clinicamente que o decurso da doença está intimamente relacionado com o género e idade [33].

Anemia, hipotiroidismo, dimorfismo facial, linfedema, priapismo e azoospermia são exemplos de achados clínicos, que estão associados à DF, mas que ainda carecem de uma maior confirmação clínica [2].

3.2 – **Envolvimento renal**

Na DF, a nível renal, a deposição de Gb_3 ocorre nas células intersticiais e mesangiais, no endotélio glomerular e nos podócitos. Foram também encontrados depósitos destes esfingolípidos no epitélio da ansa de Henle, no túbulo distal e no endotélio das arteríolas renais [34].

O comprometimento renal inicialmente manifesta-se pela presença de isostenúria e poliúria. Mais tarde, entre os 20 e 30 anos, surge microalbuminúria e proteinúria (indicador da progressão em ambos os géneros), associada a um declínio gradual da taxa de filtração glomerular. Em adolescentes e crianças, o curso natural da doença não está totalmente compreendido, mas a realização de uma biópsia renal e o declínio da filtração glomerular podem ser fulcrais no diagnóstico [35].

Com o avanço da idade (homens entre os 40 e 50 anos), a proteinúria torna-se ainda mais evidente, à medida que o número de nefrónios afetados aumenta. A nível histológico, é caracterizada pela ocorrência de fibrose e atrofia tubular. Na variante renal da doença, a insuficiência renal surge em idades semelhantes, mas sem a ocorrência dos outros quadros clínicos da DF [36].

3.3 – **Variante intermédia**

O fenótipo intermédio foi descrito em doentes que não possuem sinais/sintomas cardíacos na infância. Apresentam depois arritmias e hipertrofias cardíacas, por volta dos 40 anos, evoluindo depois para complicações renais [37].

3.4 – **Envolvimento cardíaco**

Na DF, a nível cardíaco, é comum a ocorrência de hipertrofia ventricular esquerda (HVE), hipertrofia ventricular direita (HVD), alterações na condução, dilatação da raiz da aorta e doença coronária de predomínio microvascular. Estas alterações podem despoletar o surgimento de dispneia, palpitações ou síncope. A diversidade de sintomas, cuja expressão depende da idade e género, pensa-se estar relacionada com a deposição de Gb_3, ao nível do miocárdio e sistema de condução sinoauricular [38].

A redução da capacidade de relaxamento e contráctil do miocárdio pode ser detetada ainda antes da HVE. Dois terços dos pacientes que apresentaram HVE apresentaram também HVD. A HVE, é geralmente concêntrica, mas pode ser assimétrica (com diminuição da parede posterior do septo) e de fibroses. A realização de um ecocardiograma e ressonância magnética são fulcrais para um correto diagnóstico. No eletrocardiograma (ECG), é possível observar inicialmente um intervalo de PR curto, evoluindo para um prolongamento deste intervalo, conjuntamente com alterações na repolarização de sobrecarga/isquémia e bloqueio áurico-ventricular [39].

A variante cardíaca é a mais comum entre as existentes.

IV. Etiologia

A α-gal A possui uma estrutura tridimensional, homodimérica, em que cada monómero possui dois domínios. Em termos funcionais, durante processos catabólicos (Figura 3), esta enzima atua como catalisadora da remoção da galactose proveniente de oligossacarídeos, glicoproteínas e glicolípidos [40].

Geneticamente, a α-gal A é codificada por um único gene, o GLA, que se encontra no braço longo do cromossoma X (posição Xq22). Foram identificadas mais 600 mutações associadas a este gene, originando a obtenção de uma enzima não funcional. A DF pode ser causada por mutações pontuais *nonsense* ou *missense*, mutações durante o *splicing*, deleções (pequenas e grandes) e pequenas inserções [41].

Ao longo dos anos têm sido desenvolvidos estudos, com o objetivo de proceder à identificação de mutações e polimorfismos associados à α-gal A, mas existem ainda muitas dúvidas e perguntas sem resposta.

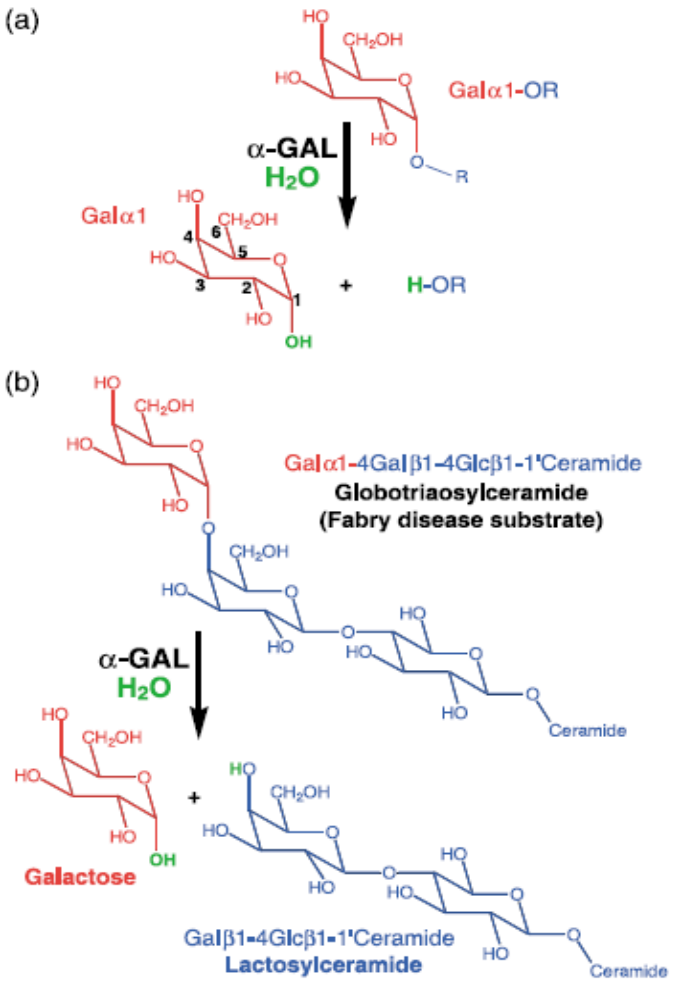

Figura 3 *– Processos catabólicos realizados pela α-gal A. (a) Reação geral catalisada pela α-gal A, em que a galactose terminal é clivada com a formação da α-galactose e um álcool. (b) A Gb3 é clivada pela α-gal A, formando lactosilceramida. Na ausência de funcionalidade da enzima, ocorre a acumulação de Gb3 (Adaptado de [40]).*

Uma dessas controvérsias reside no grau de correlação que existe entre o fenótipo e genótipo da doença. Por exemplo, diferentes mutações podem estar associadas a fenótipos similares, mas por outro lado, membros de uma família que possuam a mesma mutação podem apresentar diferentes fenótipos [42].

V. Diagnóstico

A grande heterogeneidade de sinais e sintomas presentes na DF, associada à ausência de disfunção cardíaca ou renal grave em idade pediátrica, são os principais responsáveis pela camuflagem da doença. Estudos recentes indicam que o diagnóstico correto é obtido com 15 anos de atraso, porque normalmente os sinais e sintomas são primeiramente associados a doenças mais "comuns" e só após a consulta de vários especialistas é que se chega à causa primordial [19].

Um dos maiores desafios dos profissionais de saúde, prende-se com o diagnóstico rápido da doença, e como atuar (Figura 4), tendo como objetivo a possibilidade de iniciação de uma resposta terapêutica célere. Especialistas indicam que se existir suspeita no exame clínico, esta deve ser confirmada com exames bioquímicos e/ou genéticos [43].

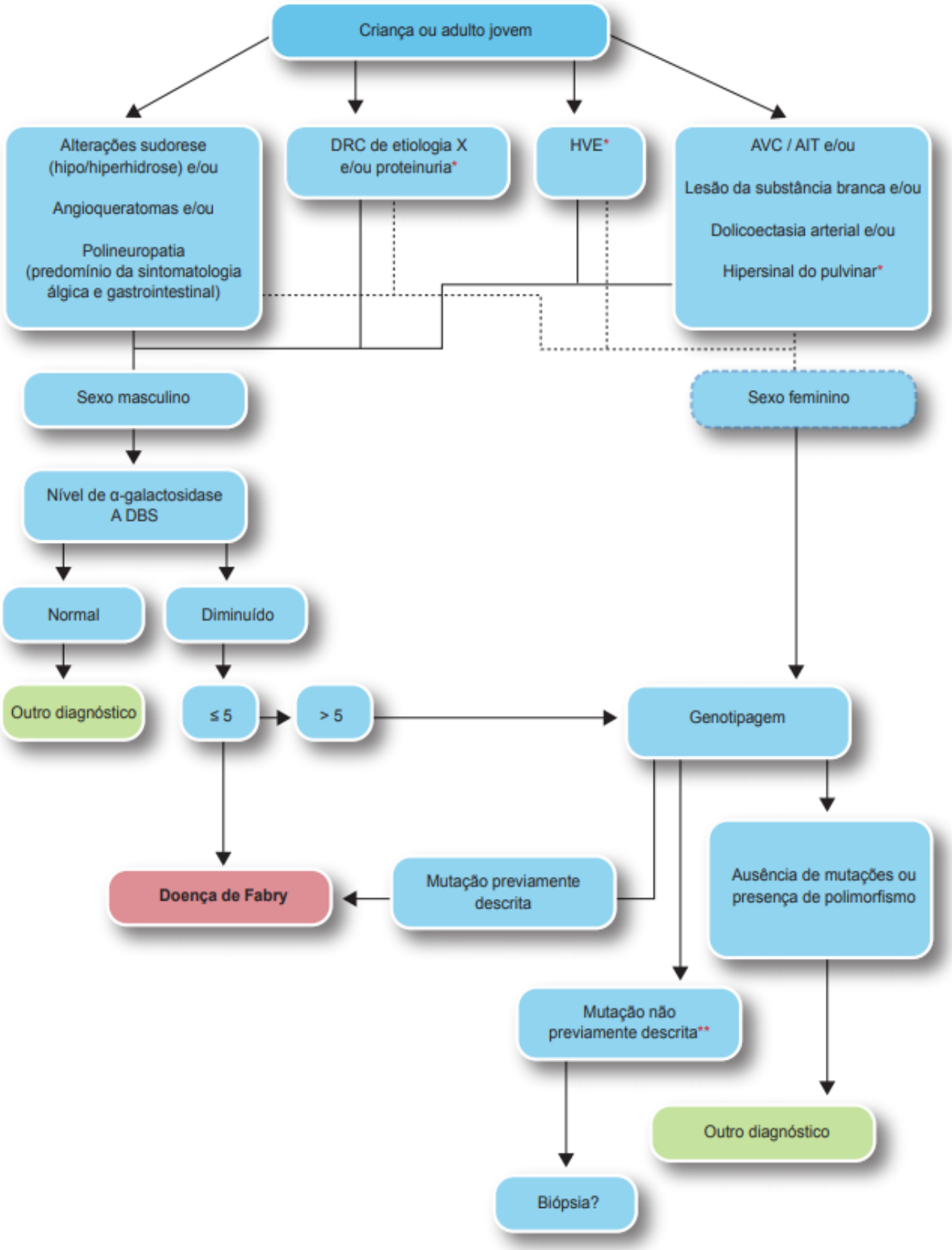

Figura 4 *– Organograma resumo, em que permite obter uma relação entre os sinais e/ou sintomas, com o género e tipo de diagnóstico a realizar. Legenda: HVE* - Considerar apenas adultos; DRC*: Doença renal crónica e incluir apenas adultos; Mutação não previamente descrita** - Reavaliação clínica, análise de pedigree, determinação de biomarcadores, expressão da mutação in vitro e confirmação histológica da deposição de* Gb_3 *[46].*

5.1 – **Diagnóstico bioquímico**

5.1.1 – **Ensaios enzimáticos**

Nos homens com fenótipo clássico da doença, a demonstração da atividade enzimática deficitária da α-gal A (<5% do normal), no plasma ou leucócitos, e no teste de 'gota seca' (*dried blood spot* - DBS), são vistos como métodos de referência. O teste de DBS é um método fluorométrico, em que são utilizados papéis de filtro onde são colocadas as amostras de sangue. Estes permitem o armazenamento das amostras durantes 6 meses [44,45].

Naqueles doentes que possuem o fenótipo atenuado, a atividade enzimática residual pode influenciar os resultados obtidos. Recorre-se então à sequenciação do gene GLA para a obtenção do diagnóstico definitivo. A avaliação da atividade enzimática no plasma pode resultar em falsos negativos, pelo que deve depois ser confirmada pela análise da atividade ao nível dos leucócitos [44].

As mulheres necessitam obrigatoriamente de realizar a sequenciação do gene GLA, porque apresentam geralmente a atividade enzimática dentro de valores considerados normais [44].

5.1.2 – **Globotriasilceramida (Gb_3)**

O método de determinação da concentração de Gb_3 no plasma é muito lento e as mulheres apresentam naturalmente valores inferiores, não sendo obrigatoriamente indicativos de doença. A obtenção da concentração de Gb_3 a partir da urina, é considerado um teste fidedigno, que pode ser aplicado a ambos os sexos. Mas foram reportados falsos negativos, na presença de mutações específicas no gene GLA e/ou em indivíduos com o fenótipo atenuado [46].

5.2 – **Sequenciação do gene GLA e rastreios**

Um dos métodos mais utilizados na pesquisa de mutações é o dHPLC (*denaturing high-performance liquid chromatography*), que é considerado também um bom método de rastreio, permitindo a caracterização da mutação e obtenção de diagnósticos definitivos [47].

O rastreio da população deve ser obtido através de um método fiável, barato e rápido. Por estas razões, os métodos bioquímicos de avaliação da concentração de Gb_3 tanto no plasma como na urina, não são considerados ideais [46].

O método mais aceite para realização do rastreio é o DBS, estando este validado no sexo masculino. No que toca ao sexo feminino, estes afirmam que o método não deteta um terço dos casos reais [48,49]. Este método é também economicamente mais viável, comparativamente ao dHPLC.

Somente realizando o rastreio de indivíduos com história familiar relacionada com a DF, ou a realização de rastreio em recém-nascidos, é que será possível identificar os portadores da doença antes do aparecimento dos primeiros sintomas.

5.3 – **Marcadores auxiliares e biomarcadores**

Os marcadores auxiliares podem ser úteis para o acompanhamento do decurso da DF, mas carecem ainda de uma maior confirmação científica. Embora os níveis normalmente se apresentem dentro da normalidade, foram reportados casos de anemia, colesterol-HDL elevado, concentração de lipoproteína (a) elevada e homocistinúria. Em indivíduos com HVE, é comum encontrar concentrações serológicas elevadas de troponina I e péptido natriurético tipo-B. A nível urinário, a acumulação de Gb_3 pode ser observada em cilindros celulares e eritrócitos. Num estudo realizado em França, 40% dos doentes apresentaram níveis anormais de vitamina D, fazendo deste marcador um dos mais importantes e promissores [2].

Um dos maiores desafios para a sociedade científica prende-se com a procura de biomarcadores que permitam avaliar o progresso da doença e a resposta à terapêutica, utilizando métodos não invasivos e com resultados fidedignos.

É comum a presença de concentrações plasmáticas elevadas da lyso-Gb_3 em doentes de DF, sendo que esta é mais extensa em homens do que nas mulheres. Importa referir que após a iniciação da terapêutica de substituição enzimática (TSE, v. secção X), a concentração plasmática da lyso-Gb_3 desce de uma forma mais acentuada, comparavelmente com a Gb_3. É por isso considerada um potencial biomarcador importante da severidade da doença, e pensa-se que a redução na sua concentração esteja ligada a *outcomes* positivos da doença. Estudos indicam também que a lyso-Gb_3 pode ter um papel importante na promoção da libertação de mediadores secundários, na lesão glomerular [50].

Outra descoberta importante foi a presença de níveis plasmáticos elevados de esfingosina-1-fosfato em homens com DF, comparado com os valores obtidos em indivíduos saudáveis. Estudos indicam que este esfingolípido de sinalização, envolvido nos processos de

cardioproteção e cronotropismo cardíaco, está intimamente ligado a processos de *remodelling* cardiovascular em indivíduos de ambos os géneros afetados pela DF [51,52].

Em 2015, um grupo de investigadores, através de uma análise proteómica, identificaram várias proteínas que possuem um elevado potencial de biomarcadores, obtidas a partir da urina em ambos os sexos. Constataram também que, a concentração destas proteínas regressa a níveis normais após a iniciação da TSE, permitindo assim um acompanhamento da instituição da terapêutica e um diagnóstico mais precoce. Será necessária uma maior confirmação científica desta descoberta, mas permite olhar de uma forma mais positiva para a possibilidade de obter um melhor acompanhamento e uma alternativa às medições da atividade enzimática da α-gal A [53,54].

5.4 – **Histopatologia**

Recorrendo à microscopia ótica, numa biópsia renal é comum encontrar vacuolização dos podócitos, das células epiteliais parietais e das células tubulares. Com esta biópsia é possível excluir outras patologias renais, permitindo também uma avaliação do grau de gravidade e envolvimento renal [55]. Quando é necessária a comprovação da etiologia da HVE, e não é conhecida a patogenicidade da mutação, em conjunto com a atividade residual da α-gal A nos homens, recorre-se à realização de uma biópsia miocárdica [56].

VI. Diagnóstico diferencial

A existência de um quadro clínico tão vasto aliado a um conjunto de sinais e sintomas que facilmente são confundidos com outras patologias, torna a DF uma doença de difícil diagnóstico. Abaixo estão descritos os diagnósticos diferenciais mais comuns associados aos sintomas mais recorrentes na DF (Tabela 2).

Tabela 2 *– Diagnósticos diferenciais comuns a partir de sintomas de DF. (Adaptado de Sanofy Genzyme SAUS.DF.18.02.1070 (www.fabrycommunity.com))*

Sintomas da DF	Erroneamente diagnosticado como
Dor abdominal (severa)	Apendicite aguda
Dor aguda nas extremidades	Eritromelalgia, "growing pains"
Dor aguda sem causa aparente	Neurose
Taxa de sedimentação eritrocitária elevada	Artrite reumatoide juvenil
Angioqueratomas	Lupus, Petéquias
Fadiga	Síndrome de fadiga crónica, Lupus
Dores nas articulares	Artrite reumatoide juvenil
Dor e sensibilidade nas extremidades	Síndrome de Raynaud
AVCs em estruturas do tronco encefálico	Esclerose múltipla

VII – Diagnóstico pré-natal

O diagnóstico pré-natal é realizado recorrendo à avaliação da atividade enzimática da α-gal A ou sequenciação do DNA, diretamente a partir do vilo corial (10ª semana de gravidez) ou em cultura celular de células amnióticas (14ª semana de gestação). Por razões éticas, a realização do diagnóstico pré-natal tem sido questionada, principalmente após o aparecimento da TSE [57].

VIII – Aconselhamento genético

A transmissão da DF está intimamente ligada ao cromossoma X, logo esta não ocorre entre o pai e os filhos, mas ocorre sempre entre o pai e as filhas. Quando o gene mutante é transmitido pela progenitora, esta possui probabilidade de 50% de afetar a sua descendência. Os filhos serão portadores sintomáticos da doença, enquanto que as filhas poderão desenvolver a manifestação da doença ou não. Após a confirmação do diagnóstico, é importante a realização do rastreio familiar, permitindo assim a identificação de outros familiares afetados pela DF, possibilitando a descoberta da doença e a instituição da terapêutica em estádios mais precoces [58].

Este aconselhamento deve ser realizado ainda antes do diagnóstico pré-natal, fornecendo informações importantes sobre os riscos, a variabilidade fenotípica e a existência da TSE e mais recentemente as *chaperones*.

IX – Tratamento médico convencional e terapias adjuvantes [2,59,60]

O carácter multi-sistémico da doença resulta na necessidade da realização de um acompanhamento multidisciplinar e, preferencialmente, interdisciplinar, englobando diversas especialidades médicas, conjugando as suas experiências e conhecimentos, tendo em vista um melhor prognóstico e o melhoramento da qualidade de vida do doente. No final, apresenta-se uma tabela onde estão compiladas as diretrizes para a examinação basal e *follow-up* dos pacientes com DF (Tabela 3).

O tratamento sintomático da DF necessita de um grande acompanhamento e da criação de uma relação de confiança com o doente, porque só assim será possível que este acredite que alterando o seu estilo de vida, obtenha resultados benéficos, e só depois se necessário se recorre à medicação profilática.

Tabela 3 – Diretrizes para a examinação basal e follow-up dos pacientes com DF (Adaptada de [2]).

Organ/system	Assessment	Guidelines
General	General status, quality of life (SF36® Health survey, EuroQOL or PedsQL® measurement mode), school or work performance, depression, anxiety, drug use, somatic growth	Baseline (at first visit), every 12 months
	Complete physical examination	Baseline, every 12 months
	Genetic counseling	Baseline, on request
	Alpha-galactosidase A activity and genotype	If not previously performed or determined
Kidney	Serum creatinine, ionogram, BUN; morning spot urine for urinary protein/creatinine ratio and albumin/creatinine ratio Urinary Gb_3 (optional)	Baseline. Every 3 months if CKD stage 1 or 2 and >1 g/day of proteinuria or CKD stage 4 Every 6 months if CKD stage 3 Every 12 months if CKD stage 1 or 2 and <1 g/day of proteinuria
Cardiac	Palpitations, angina Blood pressure, rhythm	Baseline, every 6 months Every evaluation visit
	ECG, echocardiography 2-D with Doppler	Baseline, every 12 months
	Holter monitoring	If an arrhythmia is suspected or palpitations are present
	Cardiac MRI	Every other year
	Coronary angiography	If clinical signs of angina
Neurologic	Acroparesthesias, fatigue, fever, heat and cold tolerance, stroke-related symptoms, TIA	Baseline, every 12 months
	Neurologic examination, questionnaires (Brief Pain Inventory)	Baseline, every 12 months
	Brain MRI without contrast	Baseline At time of a TIA or stroke event In females to document CNS involvement Every 3 years
	Magnetic resonance angiography	If cerebral vasculopathy should be excluded
	Comorbid stroke risk factors: Cholesterol (Total, LDL, HDL), triglycerides, Lpa, total plasma homocysteine	Baseline, every 12-24 months
ENT	Tinnitus, hearing loss, vertigo, dizziness	Baseline, every 6 months
	Audiometry, tympanometry, otoacoustic emissions	Baseline, every 12 months thereafter
Ophthalmologic	General ophthalmologic exam (slit-lamp, direct ophthalmoscopy, best corrected visual acuity, visual fields)	Baseline, every 12-24 months
Pulmonology	Cough, exertional dyspnea, wheezing, exercise intolerance	Baseline, every 12 months
	Spirometry	If clinical signs
Gastrointestinal	Postprandial abdominal pain, bloating, diarrhea, nausea, vomiting, early satiety, difficulty gaining weight Endoscopic evaluations	Baseline, every 12 months If symptoms persist or worsen despite treatment
Skeletal	Bone mineral density, 25(OH) vitamin D levels	Baseline

Legenda: GRF – Filtração glomerular; CKD – Doença renal crónica, dividida em cinco estádios, **1:** GFR > 90 mL/min/1.73 m2; **2:** 60<GFR<89 mL/min/1.73 m^2; **3:** 30<GFR<59 mL/min/1.73 m^2; **4:** 15<GFR<29 mL/min/1.73 m^2; **5:** GFR<15 = mL/min/1.73 m^2 ou end stage renal disease (ESRD) (implica diálise ou transplante).

9.1 – **Lesões cutâneas**

Após a iniciação da TSE, a utilização de métodos a laser para a remoção dos angioqueratomas pode ser considerada. Mas infelizmente os métodos utilizados não têm obtido bons resultados, nem impedido o aparecimento de novas lesões.

9.2 – **Sintomas neurológicos**

Doentes que apresentem acroparestesias e crises agudas de dor podem apresentar melhorias evitando comportamentos que despoletem amplitudes térmicas corporais. Não é aconselhada a realização de exercício físico, o uso de ar condicionado e roupas quentes. No controlo da dor neuropática, é usual a recomendação da utilização da fenitoína,

oxcarbamazepina, carbamazepina, gabapentina e a pregabalina (anti-inflamatórios são geralmente ineficazes).

No que toca a aspetos psicológicos, é recomendado o acompanhamento psiquiátrico, participação em grupos sociais, tendo como objetivos o controlo da ansiedade e estado depressivo. Em casos mais graves, é recomendada a utilização de antidepressivos, nomeadamente os inibidores seletivos da recaptação da serotonina.

9.3 – **Sintomas cócleo-vestivulares**

O tipo de intervenção está depende do grau de surdez. Em casos de surdez moderada, é usual a utilização de aparelhos auditivos. Quando a surdez é profunda, é avaliada a possibilidade de realização de um implante coclear. A utilização de proclorperazina é indicada em casos de náuseas (associadas a vertigens).

9.4 – **Sintomas gastrointestinais**

A primeira abordagem a fazer é incitar o doente a realizar refeições ligeiras e mais frequentes. As terapêuticas farmacológicas normalmente administradas incluem a metoclopramida e anti-histamínicos (H2).

9.5 – **Sintomas respiratórios**

Se o doente é fumador, este deve ser encorajado a iniciar a cessação tabágica. Em casos em que já esteja presente a obstrução das vias aéreas, deve ser avaliada a utilização de broncodilatadores.

9.6 – **Envolvimento ósseo**

Os níveis de Vitamina D devem ser acompanhados e, em caso de diminuição ou deficiência, devem ser corrigidos. O uso de bifosfonatos em doentes com a DF ainda está em estudo.

9.7 – **Envolvimento Renal**

A utilização de inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECAs) e antagonistas dos recetores da angiotensina (ARAs) provou ser eficiente na redução da proteinúria em doentes com DF. Estudos anteriores indicam que em casos de proteinúria severa, a associação de IECAs ou ARAs à TSE permite uma descida efetiva da proteinúria (algo que não era obtido recorrendo somente à TSE). Esta terapêutica permite a possibilidade de atuar em doentes que apresentem também hipertensão. Em muitos casos, é necessário recorrer à diálise e/ou a um transplante renal. Dados recolhidos indicam que o

órgão transplantado não sofre acumulação de Gb_3 e que o rim transplantado possui um melhor prognóstico do que o observado noutras patologias.

9.8 – **Envolvimento Cardíaco**

A terapêutica anti-anginosa deve ser iniciada nos casos em que os doentes apresentem dor torácica após a realização de esforços. A utilização dos β-bloqueadores deve ser ponderada, porque a instituição desta terapêutica pode resultar num agravamento da bradicardia sinusal. Este facto, aliado à maior propensão para o desenvolvimento de bloqueio atrioventricular em doentes com DF, não torna o uso de β-bloqueadores contraindicado, mas sim mais adequada a instituição de outra terapêutica, como por exemplo os bloqueadores dos canais de cálcio (preferencialmente que não limitem a frequência cardíaca).

Em situações de insuficiência cardíaca, a utilização de ARAs, IECAs ou diuréticos é preferencial, pelos factos supracitados.

Em casos de DF em que esteja presente fibrilhação auricular, o uso da varfarina é aconselhado. A utilização da aspirina é recomendada em doentes que apresentem somente um aumento do volume da aurícula esquerda.

Devido à ocorrência de arritmias malignas e taquicardias ventriculares, é usual recorrer à implantação de um cardioversor desfibrilhador implantável (CDI), prevenindo assim a ocorrência morte de súbita (também é recomendada a implantação em doentes que apresentem bloqueios atrioventriculares). Os CDIs são dispositivos parecidos com os *pacemakers*, que podem estimular a frequência cardíaca em situações de bradicardia e fornecem também a possibilidade de administração choques internos durante taquiarritmias.

O transplante cardíaco é também opção em quadros mais graves.

9.9 – **Envolvimento cerebrovascular**

A prevenção da ocorrência de AVCs é considerada fulcral pelos especialistas, para isso recorre-se ao uso profilático da aspirina. A associação com o clopidogrel é também outra hipótese terapêutica em casos de AVC ou AIT (ou em isolado em situações em que o uso da aspirina não seja tolerado). Em situações de risco elevado, a utilização de antagonistas da vitamina K deve ser ponderado (por exemplo a varfarina).

9.10 – **Medidas profiláticas**

A educação do doente é muito importante. Este deve ter consigo informações relativas a complicações associadas à doença, detalhes da medicação atual e o contacto do médico responsável pelo seu acompanhamento.

A implementação destas medidas implicam alterações no estilo de vida do doente. É importante evitar a realização de exercício físico, bem como a exposição a elevadas amplitudes térmicas. Deve ser adotada a ingestão de refeições ligeiras e em intervalos temporais mais curtos.

Deve ser promovida a ingestão adequada de vitaminas B12, B9 e B6 (especialmente em casos de homocistinúria) e monitorizados os níveis de vitamina D. O controlo do perfil lipídico é fulcral para a diminuição do risco de complicações cardíacas e cerebrovasculares. Este controlo deve ser inicialmente realizado a partir da dieta, e só depois recorrendo à terapêutica (por exemplo, através do uso de estatinas).

Alguns medicamentos que interferem com o metabolismo lisossomal, como por exemplo a amiodorona e a cloroquina, devem ser evitados durante a TSE.

X – Terapêutica de Substituição Enzimática

A terapia convencional e adjuvante não atua ao nível da principal causa inerente à DF. A base da terapia específica da doença para a maioria dos pacientes DF assenta no uso de duas formas recombinantes da α-galactosidase A humana. Na Europa foram aprovadas as duas formas recombinantes, a agalsidase alfa (Replagal®; Shire, Cambridge MA, USA), que é produzida através da cultura de fibroblastos de pele humana; e a agalsidase beta (Fabrazyme®; Genzyme Corp., Cambridge, MA, USA), que é obtida a partir da expressão da α-galactosidase A em células do ovário de um hamster chinês, recorrendo ao DNA complementar. A dose recomendada é de 0.2 mg/kg e 1.0mg/kg, respetivamente, administradas com intervalos de 15 dias. Nos Estados Unidos da América, apenas foi aprovada a agalsidase beta [61,62].

Esta terapêutica fornece uma fonte enzimática exógena ao organismo, com o objetivo de atingir um nível de atividade enzimática capaz de eliminar os glicosfingolípidos acumulados nos tecidos dos órgãos. A administração é realizada através de uma perfusão intravenosa. A enzima é depois reconhecida e captada através dos recetores da manose-6-fosfato presentes nos lisossomas dos órgãos alvo (pensa-se que os recetores manose e da asialoglicoproteína possuam também um papel importante) [61,62].

As duas formas recombinantes da α-galactosidase A humana, provaram que possuem a capacidade reduzir a gravidade da dor neuropática, contribuindo assim para uma melhoria da qualidade de vida do doente. Foi possível observar pequenas alterações na massa ventricular esquerda e redução nos níveis plasmáticos, urinários e teciduais de Gb_3 e Lyso-Gb_3. Negativamente, é importante referir que a TSE apresenta tempos curtos de semi-vida e podem ocorrer respostas imunológicas exacerbadas [63].

Existem evidências que indicam que esta terapêutica consegue retardar a progressão da DF. No entanto, não foi possível observar uma melhoria significativa da função renal ou proteinúria, existindo somente indicações que é possível um abrandamento no declínio da taxa de filtração glomerular (TFG). É também importante referir que serão necessários estudos com tamanhos amostrais maiores, com a possibilidade de uma melhor avaliação dos desfechos clínicos, para que seja possível uma conclusão sobre a efetividade real desta terapêutica [2,63].

Apesar da TSE ser considerada a terapêutica de referência na DF, a sua segurança, e eficácia (uso prolongado) e o *timing* correto de iniciação da terapêutica (tabela 4), continuam a ser alvo de estudos.

Tabela 4 *– Diretrizes atualmente propostas para a iniciação da terapêutica de substituição enzimática na DF (Adaptado de [6]).*

Subpopulação	**Diretrizes para inicio TSE**
Homens adultos (>16 anos)	Após diagnóstico da DF
Rapazes	Após o aparecimento de sintomas significantes, se assintomático considerar início entre os 7-11 anos
Mulheres (todas as idades)	Presença de sintomas ou dados que indicam o envolvimento de algum órgão

10.1 – **Estudos comparativos entre a agalsidase alfa e agalsidase beta**

Apesar de o uso de ambas as enzimas se mostrar eficaz no atraso da evolução da DF, apenas dois ensaios clínicos foram realizados comparando as duas opções terapêuticas. Num ensaio clínico aleatorizado, administrando a mesma concentração de ambas as enzimas (0,2 mg/kg quinzenalmente) e num segundo ensaio, realizado pelo Canadian Fabry Disease Initiative (CDFI), após o follow-up de 90 doentes, durante 50 meses, foi observada a inexistência de diferenças significativas entre estas enzimas [64,65].

Já em 2018, foi publicado um estudo colaborativo entre três centros de excelência europeus (Academic Medical Center (AMC), Países Baixos; Royal Free London NHS

Foundation Trust, Reino Unido e The University Hospital Wuerzburg, Alemanha), incluindo os dados do CDFI [66].

Esta análise, incluiu 283 pacientes europeus e 104 canadianos (54% mulheres). A idade média de início da TSE foi de 45 anos. Dos 387 doentes, 248 utilizam a algasidase alfa e 139 a algasidase beta, apresentando um tempo médio de *follow-up* de 5 anos. No geral os doentes que apresentavam o fenótipo clássico da doença, estavam sujeitos à terapêutica algasidase beta e já tinham sido sujeitos a diálise ou transplante renal (apresentavam valores superiores de lyso-Gb_3 e taxa de filtração glomerular mais baixos quando iniciaram a terapêutica).

Foi possível inferir que em pacientes sem HVE, após um ano de terapia, não ocorreu uma diminuição do Índice de Massa Ventricular Esquerda (IMVE - calculado a partir da fórmula de Devereux). Pelo contrário, quando apresentavam HVE, este índice decresceu. Após a análise dos resultados, foi possível associar a diminuição do IMVE a uma percentagem superior de doentes que utilizam a algasidase beta (79% vs 62%). A nível renal, não foram reportadas diferenças importantes.

A frequência de respostas imunológicas foi menor em doentes tratados com agalsidase alfa, associada a uma maior presença de anticorpos neutralizantes, no caso da algasidase beta, que se pensa estar relacionada com a dose ou processo de obtenção (a agalsidase alfa foi produzida através de uma linhagem celular humana possuindo um perfil de glicosilação humano).

Foi possível observar uma descida mais acentuada na concentração da lyso-Gb_3 com o uso da agalsidase beta, mas não foi possível criar uma ligação direta entre a descida da concentração com o melhoramento do quadro clínico, apenas sendo referida a diminuição do armazenamento do substrato.

Este estudo permitiu concluir que o uso da agalsidase beta permite uma redução mais acentuada da acumulação de substrato nos tecidos e uma redução maior da massa ventricular esquerda, mas aliada a estes factos está também uma resposta imunológica mais severa. Contudo, não foi possível concluir diferenças entre a taxa de eventos observados.

10.2 – **Algumas considerações sobre a administração da TSE**

Durante as infusões, podem surgir algumas reações associadas à infusão, como por exemplo febre, arrepios ou tremores. Estas reações parecem estar relacionadas com a presença de IgG. A presença de anticorpos neutralizantes, na sua maioria IgG, podem causar

uma perda da atividade catalítica da enzima exógena, resultando numa deterioração do quadro clínico. O uso de paracetamol, dexametasona e anti-histamínicos é aconselhado no controlo das reações adversas mais frequentes [67].

A realização da terapêutica em casa (infusões no domicílio), pode ser aplicada em doentes estáveis, permitindo um melhoramento na qualidade de vida do doente, porque possibilita a manutenção dos seus hábitos e necessidades diárias. Foram reportadas menos interrupções e uma melhor adesão à terapêutica (dosagem e horário). Contudo, não invalida que o doente se tenha de deslocar ao centro hospitalar para um acompanhamento contínuo [68].

XI – Nova abordagem terapêutica: Migalastat (Galafold®, Amicus Therapeurtics, Cranbury, NJ, USA) [2,69]

Em 2016, foi aprovada pela Agência Europeia do Medicamento, e mais tarde em 2018 pela U.S Food and Drug Administration, a possibilidade de utilização do migalastat (um *chaperone* farmacológico), indicado no tratamento de longa duração em adultos e adolescentes a partir dos 16 anos, com diagnóstico confirmado da DF e que possuam uma mutação suscetível.

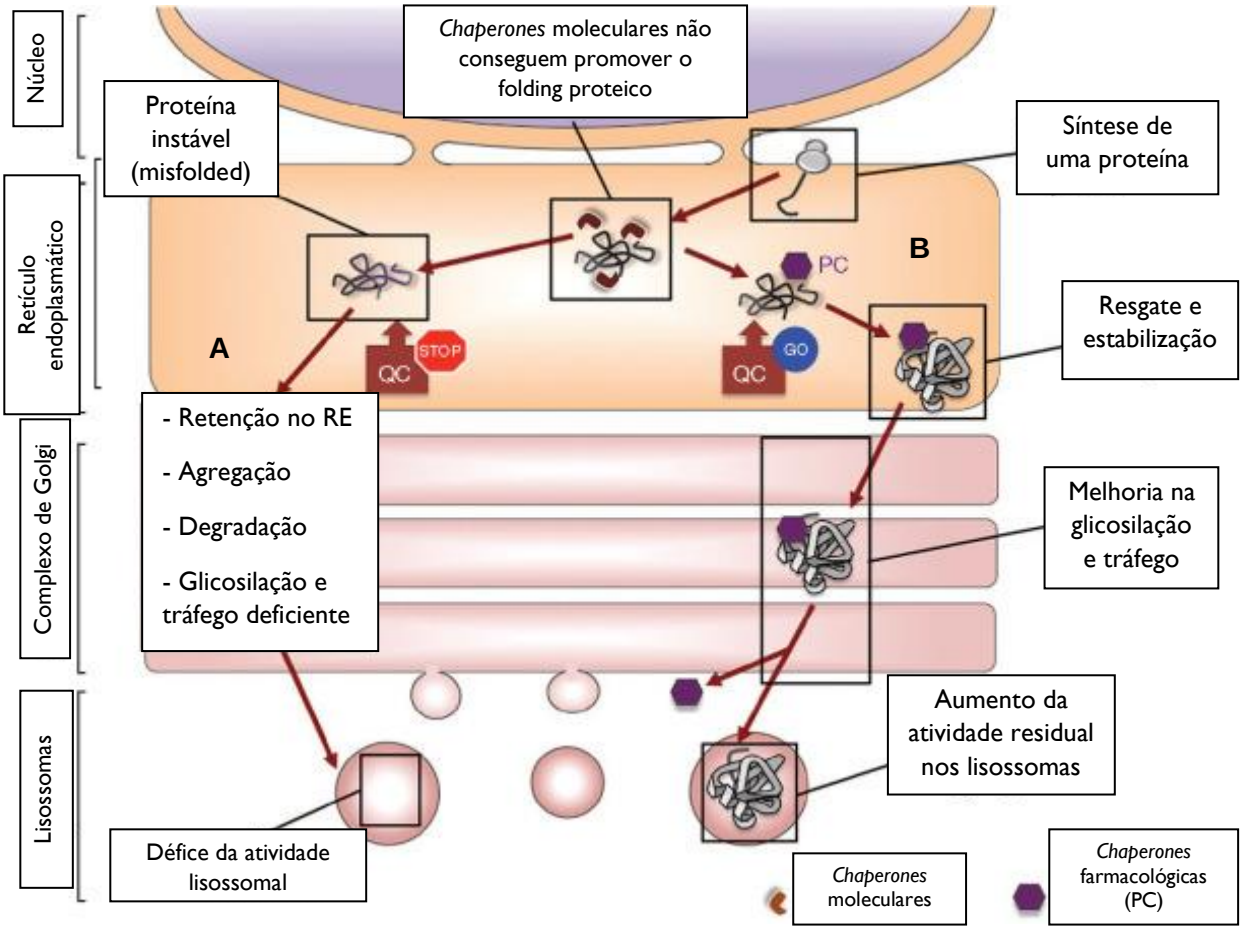

Figura 5 *– Mecanismo de ação proposto para o Migalastat [87].*

Na figura acima, está descrito o mecanismo ação proposto para o migalastat. As *chaperones* moleculares são proteínas endógenas que auxiliam no *folding* proteino, estabilizando a estrutura tetraédrica da enzima lisossomal, após a sua síntese.

As enzimas mutantes e instáveis (*misfolded*) irão ser retidas no retículo endoplasmático (RE). O organismo, através de mecanismos de controlo, avalia a viabilidade da enzima; se esta não cumprir os requisitos, é degradada por processos associados ao retículo endoplasmático, onde se incluem resultando numa deficiente glicosilação e tráfego proteico (Figura 5.A).

O migalastat (*active site specific chaperones* na figura) liga-se ao local ativo da α-galactosidase A, estabilizando e resgatando algumas enzimas mutantes, reduzindo assim a sua acumulação e retenção no RE. Permite, por outro lado, a manutenção do tráfego adequado para os lisossomas, onde a dissociação do migalastat permite que a α-galactosidase A catabolize os substratos acumulados. (Figura 5.B)

11.1 – **Estudo comparativo entre o migalastat e TSE** [70]

Após a realização de um estudo comparativo entre a utilização do migalastat em 36 doentes e da TSE em 21, durante 18 meses, foi possível observar que ocorreu uma diminuição significativa do IMVE com o primeiro, enquanto que esta não foi tão significativa recorrendo à TSE. No envolvimento renal, não foram vistas muitas diferenças entre ambas as terapêuticas, ambas possuem potencial para estabilizar e diminuir o declínio observado na TFG. A manutenção dos níveis baixos da Lyso-Gb_3, foi obtido em ambos.

Esta *chaperone* farmacológica apresenta um bom perfil de segurança e foi em geral bem tolerada. A sua toma oral permite que não estejam presentem outros sintomas relacionados com as infusões, como por exemplo a exacerbação das reações associadas as infusões (causadas pela formação de anticorpos) e permite uma melhoria significativa no nível de vida do doente, visto que este não precisa de realizar a infusão bissemanal.

O migalastat apresenta-se então como uma alternativa à primeira linha de tratamento na DF, em mutações suscetíveis, que se aplica tanto a homens como mulheres.

XII – **Prognóstico** [71]

A confirmação tardia do diagnóstico, aliado ao carácter progressivo e multissistémico da doença, reduzem a esperança média de vida dos 70 para os 50 anos nos homens e dos 80 para os 70 anos nas mulheres (em doentes não tratados).

O envolvimento dos principais órgãos, despoletando eventos renais, cardio e cerebrovasculares, contribuem ativamente para a morte prematura. Infelizmente ainda não existem dados suficientes que permitam concluir algo sobre a influência da TSE e do migalastat no aumento da esperança média de vida. Por outro lado, existem dados evidentes que a obtenção de um diagnóstico precoce permite um melhor prognóstico.

XIII – Perspetivas Futuras

13.1 – **Antagonistas da glicosilceramida sintetase** [72]

A utilização de antagonistas da glicosilceramida sintetase (miglustato) na doença de Gaucher do tipo I (outra doença Lisossomal de Sobrecarga), revelou-se eficaz em doentes que não respondiam favoravelmente à TSE. A função destes antagonistas passa por inibir a glicosilceramida sintetase, impedindo assim a acumulação da glicosilceramida nos lisossomas.

O recurso a estes antagonistas, também denominada Terapia de Redução de Substrato, permitiu o desenvolvimento de um novo antagonista, o Genz-682452. A utilização desta terapêutica foi estudada em ratos, e permitiu obter alguns dados interessantes. Foi possível observar que a utilização deste inibidor permite uma redução nos níveis tecidulares de Gb_3 e Lyso-Gb_3 e um melhoramento a nível da resposta a amplitudes térmicas. Foi demonstrada uma maior eficácia utilizando a TSE em conjunto com o Genz-682452, porque este último consegue penetrar a barreira hematoencefálica, reduzindo os níveis de glicoesfingolipídos no cérebro.

Esta terapêutica oral necessita ainda de uma maior base científica, mas mostrou resultados promissores na possibilidade do uso concomitante com a TSE.

Uma empresa suíça, a Idorsia Pharmaceuticals, desenvolveu recente um novo antagonista da glicosilceramida sintetase, o Luceralast. Este é indicado especificamente para a DF, encontra-se em ensaios clínicos de fase três (está previsto o término do ensaio em novembro de 2019), sendo a redução da dor neuropática, considerado o primeiro end-point.

13.2 – **Pegunigalsidase Alfa (PRX-102)** [73,74]

A pegunigalsidase alfa é uma versão quimicamente modificada da α-gal A (dois homodímeros covalentemente peguilados), e é obtida a partir da expressão desta proteína em células vegetais (ProCellEX).

Estão a ser estudadas duas dosagens, com o objetivo de preencher duas lacunas da TSE, uma relacionada com a necessidade de uma maior eficácia no abrandamento do declínio

da função renal (1 mg/kg quinzenalmente) e a segunda na possibilidade da administração passar a ser realizada mensalmente em doentes estáveis (2 mg/kg mensalmente). A pegunigalsidase alfa desenvolvida encontra-se em ensaios clínicos de fase III e mostrou potencial eficácia superior à TSE, e menor resposta imunológica (devido ao processo de peguilação).

13.3 – **Tecnologia CodeEvolver® (Codexis)** [75]

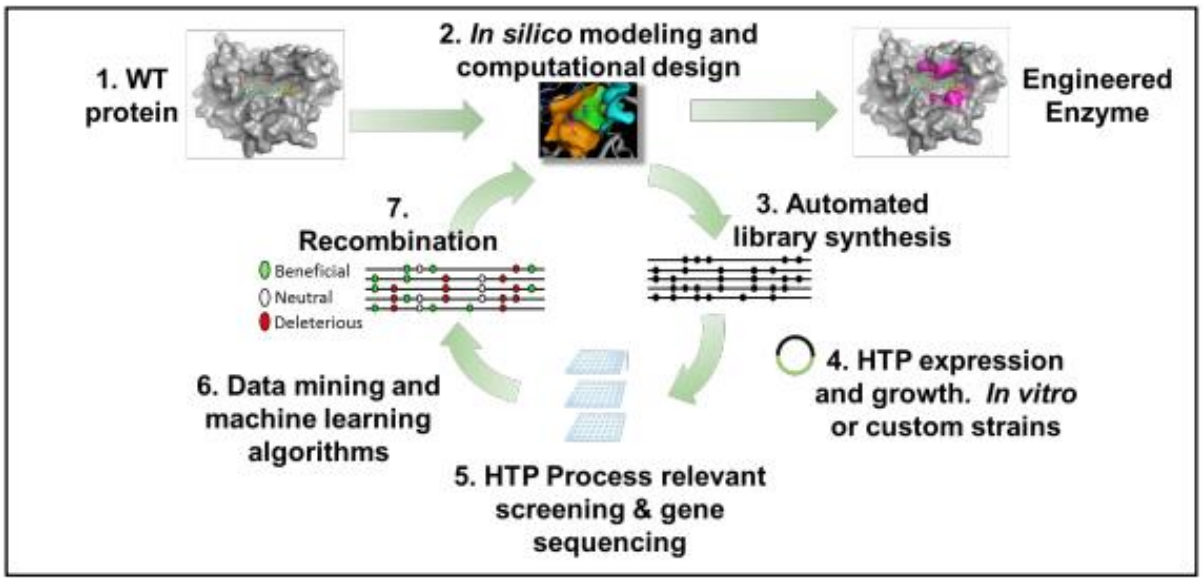

Figura 6 *– Mecanismo de otimização enzimática. Imagem adapatada de: Improving ERTs with CodeEvolver Protein Engineering Technology to Improve Protein Stability and in vivo Half-Life, as Well as Reduce Immune Response (material não publicado - www.codexis.co)*

Com o objetivo de ultrapassar os problemas relacionados com a TSE, relacionados com o tempo de semi-vida curto e respostas imunológicas exacerbadas, um conjunto de cientistas desenvolveu uma tecnologia de engenharia proteica (CodeEvolver®). Após a realização de oito ciclos de otimização e *screening* de 12.000 variantes, foi possível a obtenção de novas enzimas α-gal A (Figura 6), que, após a realização de testes em ratos portadores da doença, confirmaram uma redução na resposta imunológica e um aumento da semi-vida.

O aumento do tempo de semi-vida foi obtido inserindo 12 mutações. Já o melhoramento da resposta imunológica foi obtido por remoção de 10 mutações. Esta abordagem permite no futuro melhorar as enzimas utilizadas na terapia de substituição, tornando-as mais estáveis.

13.4 – **Terapia genética**

O silenciamento transitório da α-gal A em células de rim humano-2 (HK2), resultante de uma interferência no RNA, resultou num aumento de Gb_3 a nível intracelular,

acompanhado pelo aumento da expressão CD77 (antigénio das células B). Quando retomada a TSE, ambos os indicadores baixaram. Estes resultados permitiram elaborar um modelo celular da DF, bem como considerar o CD77 um bom indicador (ainda carece de uma maior confirmação) da eficácia e níveis de Gb_3 [76,77].

A descoberta anterior foi importante para o início dos estudos relacionados com a terapia genética, associada á utilização de ratos GLAko (inibida a expressão de α-gal A), tem permitido o estudo deste tipo de abordagens terapêuticas. A especificidade desta terapia permite a edição do DNA, com a adição ou o corte de pequenos genes. Foram realizados dois estudos com principal impacto na DF [78].

13.4.1 – **Estudos desenvolvidos pela Sangamo Biosciences** (California, US) [79, 80]

A Sangamo Biosciences elaborou duas abordagens terapêuticas, ambas recorrendo à utilização de um vírus adeno-associado (VAA), tendo como alvo o fígado. Elaboraram duas hipóteses terapêuticas, a terapia epissomal a partir do DNA complementar (cDNA), incluindo um promotor específico do rim (Figura 10.A), com o objetivo de futura replicação do material celular. A segunda hipótese, implica uma edição do genoma in vivo. Para isso, os investigadores desensenvolveram Zinc-Finger Nucleases, específicas, responsáveis pela inserção da sequência pretendida na albumina. Os autores acreditam que a inserção do gene na albumina permite uma boa estabilidade, para que seja possível obter α-gal A funcionais.

Nestes estudos, foram observados elevados valores de expressão da α-gal A a nível renal. As concentrações plasmáticas da enzima funcional, foram em alguns casos superiores à original. Ocorreu a captação da enzima funcional pelos tecidos secundários, nomeadamente no baço e coração, e em ambas as terapias foi observada a eliminação da Gb_3 e lyso-Gb_3 em grande escala (plasma, coração e fígado). Ambas as terapias ainda se encontram em fase pré-clínica. A obtenção destes resultados promissores, permitem a confirmação que a terapia genética é aplicável na DF, mas falta a parte mais complexa, a passagem para o humano.

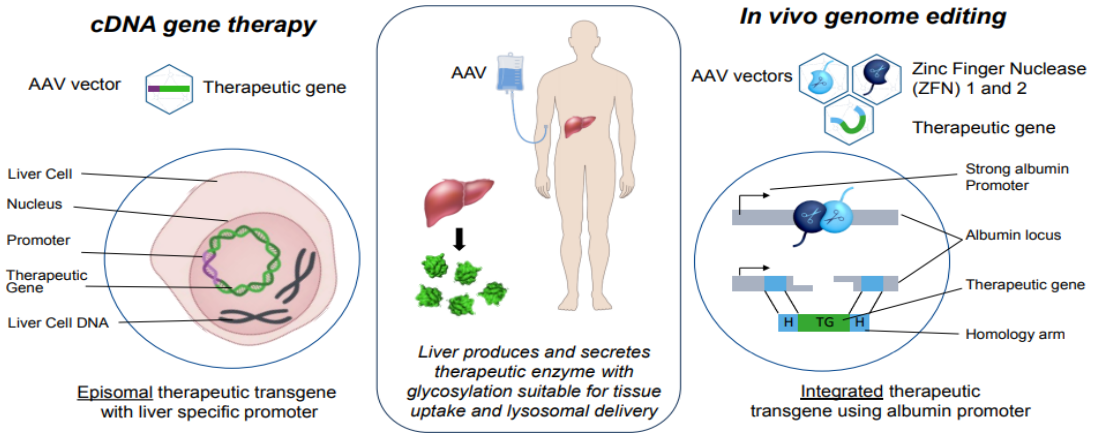

Figura 7 – Terapêuticas genéticas propostas na abordagem da DF (material não publicado - www.sangamo.com)

13.4.2 – **Transplante de células estaminais CD34+** [81,82]

No Canadá, a Universidade de Toronto está a conduzir o primeiro estudo piloto realizado em humanos (6 participantes) utilizando transplante autólogo de células estaminais CD34+. A transdução será realizada pelo vetor lentivíral, que contem o gene humano da α-gal A. O principal objetivo deste estudo é avaliar se a reintrodução das células transduzidas irá culminar num o aumento da expressão da α-gal A funcional, sem comprometimento da segurança e aumento da toxicidade associado ao vetor.

A data estimada para o final deste estudo é junho de 2024.

XIV – Conclusão

A Doença de Fabry apresenta um quadro clínico amplo e grave e de difícil diagnóstico.

É precisamente no diagnóstico em que se encontra um dos principais desafios desta patologia, porque a terapêutica disponível revela melhores resultados em diagnósticos realizados precocemente. A correta interpretação dos sintomas é difícil, porque estes podem ser facilmente associados a doenças comuns, fornecendo assim tempo para a progressão da doença. Esta progressão pode culminar em eventos renais, cardiovasculares, cerebrovasculares graves e morte súbita. Estudos indicam que os profissionais devem estar atentos ao aparecimento de angioqueratomas, visto ser o sintoma que mais "salta à vista", aliado à hipohidrose e intolerância às amplitudes térmicas.

A realização de um acompanhamento médico multidisciplinar nem sempre é fácil, é condicionado pelos recursos monetários cada vez mais escassos e gastos mais contidos em investimento em áreas médicas.

Outro ponto importante é a necessidade de um maior conhecimento dentro da população e mesmo na comunidade médica sobre esta doença, para que seja mais rápida uma associação dos sintomas à verdadeira causa. Por exemplo, só soube da existência desta patologia após a confirmação do diagnóstico de dois membros familiares. Quando os abordei, eles afirmam que muitos dos especialistas por onde passaram nem sabiam da existência desta doença rara. Quando é identificado um individuo portador da doença, é importante a realização de um rastreio familiar, permitindo assim o conhecimento de mais casos e a realização de um aconselhamento genético familiar.

A escolha da Lyso-Gb_3 como biomarcador e indicador da eficácia da terapia instituída ainda levanta dúvidas no seio da comunidade científica, e é por isso uma área onde os esforços devem continuar a ser aplicados, para uma melhor perceção da evolução da doença. Alguns especialistas afirmam que deve ser dado enfase à terapia convencional e adjuvante, porque esta atua em dois níveis muito importantes: por um lado melhora a qualidade de vida do doente, e permite a profilaxia em alguns casos. No que toca à terapêutica específica da doença, o uso da TSE e do migalastat, revelou-se positiva para os doentes, mas ainda existem dúvidas sobre os seus efeitos a longo prazo e questões relacionadas com a efetividade da terapêutica a nível renal e o aparecimento de anticorpos de neutralização (na TSE).

O conhecimento real sobre todos os benefícios/riscos associados a esta terapêutica, só serão conhecidos após a realização de estudos que acompanhem o doente desde a confirmação do diagnóstico, até ao último dia que utilize a terapêutica, e com uma base amostrar grande, devido à elevada heterogeneidade de respostas terapêuticas.

Os novos desenvolvimentos no ramo da terapia genética permitem olhar para o futuro de uma forma otimista, mas por outro lado é necessário considerar as questões éticas que a genética implica e a demora no desenvolvimento de uma terapia tão inovadora.

Bibliografia

1. Mehta, A. *et al* – **Fabry disease defined: baseline clinical manifestations of 366 patiens in the Fabry Outcome Survey**. *Eur J Clin Invest,* 34(3) (2004) 236-242.
2. Germain, D. – **Fabry disease**. *Orphanet Journal of RareDiseases,* (2010) 5:30.
3. Hers, H. – **Inborn Lysosomal Diseases**. *Gastroenterology,* 48 (1965) 625-633.
4. Neufeld, E. – **Lysosomal storage diseases**. *Annu Rev Biochem,* 60 (1991) 257-280.
5. Desnick, R., Ioannou, Y., Eng C. – **α-Galactosidase A Deficiency: Fabry Disease**. In (2001) α-Galactosidase A deficiency: Fabry disease. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Kinzler KE, Vogelstein B (eds) The metabolic and molecular basis of inherited diseases, 8th ed. McGraw-Hill, New York, pp 3733-3774.
6. Eng, C., *et al* – **Fabry disease: guidelines for the evaluation and management of multi-organ system invlvement**. *Genet Med,* 8 (2006) 539-548.
7. Schiffmann, R. *et al* – **Fabry disease: progression of nephropathy, and prevalence of cardiac and cerebrovascular events before enzyme replacement therapy**. *Nephrol Dial Transplant,* 24 (2009) 2102-2111.
8. Mehta, A. *et al* – **Fabry disease defined: baseline clinical manifestations of 366 patients in the Fabry Outcome Survey.** *Eur J Clin Invest,* 34 (2004) 236-242.
9. MacDermot, K., Miners, A. Holmes, A.,– **Anderson-Fabry disease: clinical manifestations and impact of disease in a cohort of 60 obligate carrier females.** *J Med Genet*, 38 (2001) 769-775.
10. Echevarria, L., *et al* – **X-chromosome inactivation in female patients with Fabry disease**. *Clin Genet*, 89(1) (2016) 44-54.
11. Romero, B. *et al* – **Comparison of patients from a Spanish Registry of Fabry disease in two periods.** *Med Clin (Barc),* 139(9) (2012) 379-84.
12. Carrey, W., *et al* – **Prevalence of lysosomal storage disorders**. *JAMA,* 281 (1999) 249-254.
13. Poorthuis, B., *et al* – **The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands.** *Hum Genet*, 105 (1999) 151-156.
14. Spada, M., *et al* – **High incidence of later-onset Fabry disease revealed by newborn screening**. *Am J Hum Genet*, 79 (2006) 31-40.
15. Chien, Y., *et al*. **Newborn screening for Fabry disease in Taiwan reveals a high incidence of the later-onset GLA mutation**. *Hum Mutat* 30 (2009) 1397-1405.
16. Caseiro C, *et al* – **Prevalence of lysosomal storage diseases in Portugal.** *Eur J Hum Genet*, 12 (2004) 87-92.

17. Fortuna, A., *et al* – **Fabry disease in Portugal – Insights from the male patients.** *Rev de Pediatria do CH do Porto*, suplemento I, S13, 2016.
18. Coutinho, F., Duarte, J., Matos, L. – **Lysosomal storage diseases in Portugal: 10 years of experience in molecular studies at National Health Institute (2006-2016).** Disponível em: está disponível: http://repositorio.insa.pt/bitstream/10400.18/3787/1/observacoesNEspecia7-2016_artigo4.pdf.
19. Hopkin, R., *et al* – **Females with Fabry disease frequently have major organ involvement: lessons from the Fabry Registry.** *Mol Genet Metab* 93 (2008) 112-128.
20. Banikazemi, M., et al – **Characterization of Fabry Disease in 352 Pediatric Patients in the Fabry Registry.** *Pediatr Res*, 64 (2008), 550-555.
21. Ganendiran, S., *et al* – **Characterization of pain in Fabry disease.** *Clin J Pain,* 30 (2014) 915-920.
22. Benistan, K., *et al* – **Vestibular and cochlear manifestations in Fabry's disease.** *Rev Med Interne*, 31(S2) (2010) 251-256.
23. Banikazemi, M., *et al* – **Stroke in Fabry disease frequently occurs before diagnosis and in the absence of other clinical events.** *Stroke*, 40(2009) 788-794.
24. Hauser, A., Lorenz, M., Sunder-Plassmann, G. – **The expanding clinical spectrum of Anderson-Fabry disease: a challenge to diagnosis in the novel era of enzyme replacement therapy.** *J Intern Med*, 255 (2004) 629-636.
25. Hoffmann, B., et al – **Gastrointestinal symptoms in 342 patients with Fabry disease: prevalence and response to enzymereplacement therapy.** *Clin Gastroenterol Hepatol*, 5 (2007) 1447-1453.
26. Allen, L., *et al* – **Fabry disease in children: correlation between ocular manifestations, genotype and systemic clinical severity.** *Br J Ophthalmol*, 94 (2010) 1602-1605.
27. Samiy, N. – **Ocular features of Fabry disease: diagnosis of a treatable life-threatening disorder.** *Surv Ophthalmol*, 53 (2008) 416–423.
28. Eng, C., *et al* – **Fabry disease: Baseline medical characteristics of a cohort of 1765 males and females in the Fabry Registry.** *J Inherit Metab Dis*, 30 (2007) 184-192.
29. Jansen, T., *et al* – **Fabry disease and the skin: data from FOS, the Fabry Outcome Survey.** *J Dermatol*, 157 (2007), 331-337.

30. Amartino, H., *et al* – **Fabry disease: a study of 6 hemizygous men and 5 heterozygous women with emphasis on dermatologic manifestations.** *Arch Dermatol*, 140 (2004) 1440-1446.
31. Germain, D. – **Fabry's disease: physiopathology, clinical signs, and genetic aspects.** *J Soc Biol* 196 (2002), 161-173.
32. Alessandro, R., *et al* – **Fabry disease and multiple sclerosis misdiagnosis: the role of family history and neurological signs.** *Oncotarget*, 9(8) 2018 7758–7762.
33. Lubanda, J., et al – **Natural history of the respiratory involvement in Anderson-Fabry disease.** *J Inherit Metab Dis*, 30 (2007) 790-799.
34. Battini, G., et al. **Renal pathological changes in Fabry disease.** *J Inherit Metab Dis*, 24 (2001) 66-70.
35. Imbriaco, M., *et al* – **The kidney in Fabry's disease**. *Clin Genet* 86(4) (2014) 301-309.
36. Branton, M., *et al* – **Natural history of Fabry renal disease: influence of alpha-galactosidase A activity and genetic mutations on clinical course.** *Medicine (Baltimore)*, 81 (2002) 122-138.
37. Germain, D. – **A new phenotype of Fabry disease with intermediate severity between the classical form and the cardiac variant.** *Contrib Nephrol*, 136 (2001) 234-240.
38. Beck, M., *et al* – **Cardiac involvement in Anderson-Fabry disease.** *J Am Soc Nephrol*, 13 (2002) S147-9.
39. Baig, S., *et al* – **Cardiac Phenotype of Prehypertrophic Fabry Disease.** *Circ Cardiovasc Imaging*, 11(6) (2018) e007168.
40. Garman, S., Garboczi, D. – **The molecular defect leading to Fabry disease: structure of human alpha-galactosidase.** *J Mol Biol,* 337(2) (2004) 319-35.
41. Gal, A. – **Molecular genetics of Fabry disease and Genotype-phenotype correlation in Fabry disease.** *New-York: Springer* 3 (2010) 3-19.
42. Ball, E., *et al* – **Human gene mutation database-a biomedical information and research resource.** *Hum Mutat*, 15 (2000) 45-51.
43. Bouhassira, D., et al – **Practical Recommendations for Diagnosis and Treatment.** *CNS Neurosci Ther,* 22(7) (2016) 568-76.
44. Gal, A., Hughes, D., Winchester, B. – **Toward a consensus in the laboratory diagnostics of Fabry Disease – recommendations of an European expert group.** *J Inherit Metab Dis*, 34 (2011) 509-14.
45. Desnick, R. *et al* – **Prenatal diagnosis of Fabry disease.** *Prenat Diagn*, 28(3) (2008) 268.

46. Cabrita, A., *et al* – **Is it Fabry Disease? Diagnostic and Follow-up Approach.** *Acta Md Port*, 29(2) (2016) 85-87.
47. Desnick, R., Robinson, M., Shabbeer J. – **Detection of alpha-galactosidase a mutations causing Fabry disease by denaturing high performance liquid chromatography.** *Hum Mutat*, 25(3) (2005) 299-305.
48. Caudron, E., Germain, D., Prognon, P. – **Fabry disease: enzymatic screening using dried blood spots on filter paper.** *Rev Med Interne*, 31(2) (2010) 263-9.
49. Aerts, J., *et al* – **Screening for Fabry disease using whole blood spots fails to identify one-third of female carriers.** *Clin Chim Acta*, 353 (2005), 201-203.
50. Breunig, F., *et al* – **Reduction of elevated plasma globotriaosylsphingosine in patients with classic Fabry disease following enzyme replacement therapy.** *Biochim Biophys Acta,* 1812(1) (2010) 70-6.
51. Li, N., Zhang, F. – **Implication of sphingosin-1-phosphate in cardiovascular regulation.** *Front Biosci (Landmark Ed),* 21 (2016) 1296-313.
52. Brakch. N, *et al* – **Evidence for a role of sphingosine-1 phosphate in cardiovascular remodelling in Fabry disease.** *Eur Heart J*, 31 (2010) 67-76.
53. Carmela, Z., *et al* – **Alteration of proteomic profiles in PBMC isolated from patients with Fabry disease: preliminary findings.** *Mol BioSyst*, 9 (2013) 1162-1168.
54. Beneduci, A., et al**.** – **Early markers of Fabry disease revealed by proteomics.** *Mol. BioSyst.* 11, (2015) 1543-1551.
55. Joseph Alroy, Sharda S, Jeffrey B. – **Renal Pathology in Fabry Disease.** *JASN*, vol. 13 no. suppl 2 (2002) 134-138.
56. Chang, F., *et al* – **Later Onset Fabry Disease, Cardiac Damage Progress in Silence: Experience with a Highly Prevalent Mutation.** *J Am Coll Cardiol*, 68(23) (2016) 2554-2563.
57. Didier, L., Raas-Rothschild, A. – **Fabry disease prenatal diagnosis**. *Prenatal Diagnosis*, 28(3) (2008) 268
58. Leslie J, *et al* – **Genetic counseling throughout the life cycle.** *J Clin Invest*, 112(9) (2003) 1280-1286.
59. Christine, M., *et al* – **Fabry disease: Guidelines for the evaluation and management of multi-organ system involvement.** *Genetics in Medicine*, volume 8 (2006) 539-548 .
60. Arad, M., *et al* – **European expert consensus statement on therapeutic goals in Fabry disease.** *Mol Genet Metab*, 124(3), 2018 189-203.

61. Gregory, M. **Agalsidase alfa (Replagal™) in the treatment of Anderson-Fabry disease.** *Biologics*, 1(3) (2007) 291–300.
62. Banikazemi, M., *et al* – **Agalsidase-Beta Therapy for Advanced Fabry Disease: A Randomized Trial.** *Ann Intern Med*, 146(2) (2007) 77-86.
63. **Enzyme replacement therapy for Anderson-Fabry disease.** Cochrane *Database Syst Rev.* 7 2016 CD006663.
64. Casey, R., *et al* – **CDFI investigators. Outcomes of patients treated through the Canadian Fabry disease initiative.** *Mol Genet Metab*, 111 (2014) 499–506.
65. Houge G., *et al* – **Treatment of Fabry disease: outcome of a comparative trial with agalsidase alfa or beta at a dose of 0.2 mg/kg.** *PLoS One*, 2 (2007) 598.
66. Arends, M., *et al* – **Agalsidase alfa versus agalsidase beta for the treatment of Fabry disease: an international cohort study.** *J Med Genet*, 55 (2018) 351-358.
67. Smid, B., *et al* – **A revised home treatment algorithm for Fabry disease: influence of antibody formation.** *Mol Genet Metab*, 108(2) (2013) 132-7.
68. Amico, M., *et al* – **Home infusion program with enzyme replacement therapy for Fabry disease: The experience of a large Italian collaborative group**. *Mol Genet Metab Rep,* 12 (2017) 85–91.
69. Germain, D., *et al* – **Treatment of Fabry's Disease with the Pharmacologic Chaperone Migalastat.** *N Engl J Med*, 375(6) (2016) 545-55.
70. Hughes, D., *et al* – **Oral pharmacological chaperone migalastat compared with enzyme replacement therapy in Fabry disease: 18-month results from the randomised phase III ATTRACT study.** *J Med Genet Published*, 54 (2017) 288-296.
71. Forrest, C., Jamboti, J. – **Fabry disease; early diagnosis improves prognosis but diagnosis is often delayed.** *J Nephropathol*, 6(3) (2017) 130-133.
72. Ashe, K. *et al* – **Efficacy of Enzyme and Substrate Reduction Therapy with a Novel Antagonist of Glucosylceramide Synthase for Fabry Disease.** *Mol Med*, 21(1) 2015 389-399.
73. Raphael, S. – **Enzyme replacement therapies in development – preclinical and clinical data and experience with pegunigalsidase alfa.** Clinical experience in studies Interim report, disponível em: http://phx.corporate-ir.net/External.File?item=UGFyZW50SUQ9Njg0OTQxfENoaWxkSUQ9Mzk0OTYyfFR5cGU9MQ==&t=1, acesso em 3/08/2018
74. Ruderfer, I., *et al* – **Development and Analytical Characterization of Pegunigalsidase Alfa, a Chemically Cross-Linked Plant Recombinant**

Human α-Galactosidase-A for Treatment of Fabry Disease. *Bioconjug Chem*, 29(5) (2018) 1630-1639

75. Agard, N., *et al* – **Improving ERTs with Code Evolver Protein Engineering Technology to Improve Protein Stability and in vivo Half-Life, as Well as Reduce Immune Response**. Disponível em: https://www.codexis.com/showcase/improving-erts-with-codeevolver-protein-engineering-technology-to-improve-protein-stability-and-in-vivo-half-life-as-well-as-reduce-immune-response/, acesso em 15/08/2018
76. Thomaidis, T., *et al* – **Downregulation of alpha-galactosidase A upregulates CD77: functional impact for Fabry nephropathy.** *Kidney Int*, 75(4) (2009) 399-407.
77. Simonetta, I., *et al* – **Genetics and Gene Therapy of Anderson-Fabry Disease.** *Curr Gene Ther*,18(2) (2018) 96-106.
78. Ohshima, T., *et al* – **α-Galactosidase A deficient mice: A model of Fabry disease.** *Proc. Natl. Acad. Sci*, 94 (1997) 2540-2544.
79. Anguela, X., *et al* – **In vivo genome editing of the albumin locus as a platform for protein replacement therapy.** *Blood*, 126(15) (2015) 1777-84.
80. Huston, M., *et al* – **Liver-based expression of the human alpha-galactosidase A gene (GLA) in a murine Fabry model results in continuous high levels of enzyme activity and effective substrate reduction.** Molecular Genetics and Metabolism, S68 (2018) 123.
81. University of Calgary: Gene therapy used to treat Fabry disease — a world first. Fonte bibliográfica: https://www.ucalgary.ca/utoday/issue/2017-02-17/gene-therapy-used-treat-fabry-disease-world-first, acesso em 26/08/2018.
82. U.S National Library of Medicine: Clinical Trials.gov Fonte bibliográfica: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02800070?term=fabry+cd34&rank=1, acesso em 26/08/2018
83. Parenti, G., Andria, G., Valenzano, K. – **Pharmacological Chaperone Therapy: Preclinical Development, Clinical Translation, and Prospects for the Treatment of Lysosomal Storage Disorders.** *Mol Ther,* 23(7) (2015) 1138-1148.

Parte I

RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

Farmácia Peixoto
Braga

1. Introdução

O farmacêutico, após um longo percurso de especialização, é agora considerado um profissional de saúde, com formação avançada no conhecimento e manipulação do medicamento. A regência por normas éticas e deontológicas, colocando em prática as Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária, fazem do farmacêutico um dos responsáveis pela saúde e bem-estar da comunidade onde está inserido. A farmácia deve ser considerada como um ponto de partilha e acolhimento, não apenas como ponto de venda. Os conhecimentos adquiridos durante os estudos académicos e anos de experiência por parte do farmacêutico, permitem que este realize um acompanhamento e aconselhamento mais próximo e correto do doente.

Infelizmente nem sempre é assim, com o maior acesso às tecnologias e a existência de pontos de venda de medicamentos não sujeitos a receita médica, muitos doentes partem para a automedicação e para um aconselhamento desadequado (se este existir), por isso depende de nós, farmacêuticos marcar pela diferença no tipo de aconselhamento e acompanhamento realizado.

No contexto da conclusão do Mestrado Integrado em Ciência Farmacêuticas (MICF), na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), realizei, entre o dia 8 janeiro e 3 de maio de 2018, um estágio curricular, na Farmácia Peixoto, situada em Braga e cuja a direção técnica está a cargo do Dr. Sebastião Peixoto.

Neste relatório, além de uma breve apresentação sobre a Farmácia Peixoto e o seu funcionamento, realizarei também uma análise SWOT, abordando os pontos fortes (*strenghts*), os pontos fracos (*weaknesses*), oportunidades (*opportunities*) e ameaças (*threats*) que surgiram durante o período de estágio.

II. A Farmácia Peixoto

A Farmácia Peixoto, é uma das farmácias mais antigas de Braga com 33 anos existência, inicialmente localizada na Praça Dr. Francisco Malheiro, e nos últimos 3 na rua Padre Vitorino de Sousa Alves. Encontra-se junto a locais importantes, nomeadamente junto à Clínica Oftalmológica do Minho e ao edifício sede da empresa PRIMAVERA *Business Software Solutions*, que alberga mais de 200 colaboradores.

Abre as suas portas de segunda à sexta entre as 9h e as 20h e ao sábado das 9h até à 13h e de tarde das 15h até às 20h, não realizando serviço permanente.

A equipa da Farmácia Peixoto, é constituída pelo Dr. Sebastião Peixoto e Dr.ª Rita Peixoto (farmacêuticos), por dois técnicos de diagnóstico e terapêutica, a Dr.ª Isabel Ferreira (que é gerente de loja) e o César Barros.

A farmácia possui um gabinete destinado à direção técnica, e outro de maiores dimensões onde são realizadas as determinações de parâmetros bioquímicos, como a pressão arterial, a glicémia e os vários tipos de colesterol. Este gabinete é usado também para consultas de nutrição e de podologia.

O sistema informático, SIFARMA 2000® encontra-se instalado nos 3 postos de atendimento e em 2 dois locais destinados à receção de encomendas. A Farmácia Peixoto participa ativamente na recolha de medicamentos usados e fora do prazo de validade através das campanhas da Valormed® e na reciclagem de ecografias, realizada pela Assistência Médica Internacional (AMI).

III. Análise SWOT

Durante o período de estágio, compilei algumas informações que me permitiram realizar uma análise SWOT, que visa identificar os pontos fortes, pontos fracos, sugestões de oportunidades e possíveis ameaças, que estão relacionadas não somente ao estágio, mas também ao dia-a-dia na farmácia.

3.1 – **Pontos Fortes**

3.1.1 – **Equipa e ambiente familiar**

A equipa da Farmácia Peixoto possui um espírito jovem, é empenhada, disponível e responsável. Fui recebido de uma forma muito carinhosa por todos, que prontamente se disponibilizaram a ajudar-me nas tarefas do dia-a-dia.

O ambiente familiar sentido por mim, é também percetível por aqueles que visitam a farmácia. Devido ao elevado número de anos que a farmácia possui, os utentes acompanharam também o crescimento dos funcionários, considerando-os como família.

3.1.2 – **Autonomia**

Desde o início do estágio vivenciei uma experiência de aprendizagem constante, onde, com o apoio de todos os colaboradores, aprendi mais sobre as funções e importância do farmacêutico no dia-a-dia dos utentes. Nas primeiras semanas comecei pela receção de encomendas, onde era necessária a verificação de prazos de validade, embalagens fornecidas e preços praticados. Estas primeiras semanas serviram também para me familiarizar com o espaço da farmácia, mais concretamente com a arrumação dos produtos e aqueles que devem ser rapidamente armazenados entre os 2-8 °C. A farmácia não possui *robot*, logo é importante localizar rapidamente os medicamentos pretendidos para realizar um atendimento eficiente. Além desta maior familiarização com o espaço da farmácia, estes primeiros tempos permitiram-me também a conhecer melhor os nomes comerciais dos medicamentos, visto que durante o MICF usamos somente a denominação comum internacional.

Apesar da minha presença na farmácia se enquadrar no plano de estágios curriculares, que têm como objetivo principal a aprendizagem e o contacto com a realidade nas diversas áreas das ciências farmacêuticas, para mim, foi muito importante ter a oportunidade de realizar um trabalho autônomo em que a confiança depositada em se revelou importante para o início da realização de trabalho de balcão.

3.1.3 – **Serviços diferenciados**

Para além dos serviços prestados pela equipa da farmácia (medição da pressão arterial e glicémia), existem ainda os serviços de aconselhamento dietético e de podologia. Ambos os serviços são prestados no gabinete fornecido pela farmácia, e são marcadas com uma semana de antecedência.

Estes dois serviços representam uma mais-valia, porque além de permitirem um aumento dos serviços prestados pela farmácia, permitem também uma maior afluência de utentes, que normalmente se traduz numa maior vantagem económica, associada à compra de produtos, essencialmente relacionados com a vertente dietética (drenantes, *blockers*, entre outros).

3.1.4 – **Integração num grupo de compras**

Tendo em vista a obtenção de melhores preços, com melhores margens, muitas farmácias têm adotado por integrarem grupos de compras, onde várias farmácias se associam e uma destas fica responsável pela compra de grandes quantidades de produtos junto dos laboratórios. Os produtos comprados ficam disponíveis na plataforma do grupo e depois são entregues às farmácias através de um distribuidor grossista. Esta estratégia permite a obtenção de uma maior percentagem de lucro, satisfazendo também os seus utentes com a possibilidade de praticarem preços mais baixos.

3.2 – **Pontos Fracos**

3.2.1 – **Produtos de uso veterinário e dermocosmética**

A pouca oferta disponibilizada pela farmácia na área veterinária e dermocosmética, pode ser vista como um ponto fraco, mas também como uma oportunidade a trabalhar no futuro. Sei que é difícil albergar uma grande variedade de produtos nestas áreas, porque são muito extensas, mas era necessário um levantamento dos produtos mais requisitados pelos utentes, para que depois se pudesse definir os alvos do mercado.

3.2.2 – **Aposta na formação contínua**

Existe uma maior necessidade no investimento na formação contínua da equipa da Farmácia Peixoto. A formação deve ser vista como uma pedra fulcral na manutenção de um serviço diferenciado e de qualidade. Uma das melhores formas de demonstrar a importância das farmácias, reside no tipo de atendimento que é realizado, pela demonstração de conhecimento total e na qualidade do aconselhamento prestado ao cliente.

3.2.3 – **Sistema de senhas**

Em certas horas do dia, devido à maior afluência de utentes é difícil a manutenção de filas ordeiras, podendo gerar focos de conflito. Este problema é facilmente contornado com a resolução do problema de funcionamento do dispositivo gerador de senhas, porque este já foi adquirido pela farmácia, mas possui falhas na comunicação entre o gerador de senhas e os postos de atendimento.

3.2.4 – **Medicamentos manipulados**

A Farmácia Peixoto não produz medicamentos manipulados, esta recorre a uma farmácia especializada neste tipo de medicamentos que após realizada a encomenda, procede à sua entrega em 3/4 dias úteis. Esta necessidade de realização da encomenda e tempo de espera, impede que se consiga satisfazer rapidamente a pretensão do cliente.

A estratégia adotada pelos colaboradores da farmácia, tem sido identificar os utentes usuais destes manipulados, informando-os da necessidade da realização do pedido com antecedência, para que não interrompam a terapêutica.

3.2.5 – **Desconhecimento dos nomes comerciais dos medicamentos**

Acho que este é um problema inerente a todos os meus colegas que agora realizaram estágio curricular, para mim foi difícil lidar com o desconhecimento e incapacidade de associação entre os nomes comerciais e a denominação comum internacional. Esta tarefa é ainda mais difícil, quando os utentes da farmácia não pronunciam corretamente o nome comercial do medicamento, porque andamos à procura de algo que não conhecemos e nem sequer sabemos como pesquisar pelo mesmo.

Algo que me ajudou neste campo, foi a familiarização com estes produtos durante a receção de encomendas nas primeiras semanas de estágio.

3.2.6 – **Medição de parâmetros bioquímicos**

A medição da glicémia, colesterol-HDL, colesterol-LDL, colesterol total e triglicerídeos não era muito usual na Farmácia Peixoto. O dispositivo disponível era muito antigo e era mais prudente aconselhar os utentes a realizarem esses exames numa clínica próxima (4km), por um valor de 5 euros, e com resultados mais fidedignos.

3.2.7 – **Ausência de *robot***

A ausência de *robot* implica uma maior demora no armazenamento das encomendas rececionadas e durante os processos de venda. Compreendo que é um investimento

elevado, mas se for feito o estudo do número de horas que um colaborador é alocado no armazenamento e o tempo perdido durante o atendimento, a longo prazo, penso que o investimento apresenta retorno.

3.3 – **Oportunidades**

3.3.1 – **Produtos de uso veterinário e dermocosmética**

Como referi anteriormente, considero este tópico também uma oportunidade de investimento por parte da Farmáacia Peixoto, porque além de responderem a necessidades cada vez mais crescentes da sociedade, permitem uma boa receita alternativa para a farmácia.

Nas últimas semanas de estágio, decorreu a abertura de uma loja de cuidados animais junto à farmácia, sendo que este é um bom indicador para o início de uma aposta mais real no setor dos produtos veterinários.

No ramo da dermocosmética, talvez fosse interessante a procura de marcas que realizassem *workshops* na farmácia, porque maioria das vezes é difícil convencer alguém a experimentar uma alternativa cosmética até ali desconhecida para o utente. Esta abordagem permitiria por um lado que os utentes lidassem mais de perto com o produto que pretendemos que seja adquirido, possibilitando o seu acesso gratuito a amostras, fidelizando o utente.

Em ambas as áreas, a especialização da equipa de trabalho necessita de ser uma constante, porque a venda de produtos em *pet-shops* e a retalho, no caso dos medicamentos de uso veterinário e dermocosmética, respetivamente, apresentam-se como ferozes competidores nestes nichos de mercado.

3.3.2 – **Redes Sociais**

O mundo *online* fornece muitas oportunidades que por vezes não são valorizadas. A possibilidade de realização de publicidade gratuita, aliada à divulgação de campanhas, apresentação de novos produtos, conselhos de utilização, promoção do uso responsável do medicamento e ações de prevenção, são algumas oportunidades que devem ser aproveitadas.

Esta abordagem possibilita o acompanhamento tecnológico praticado por outras farmácias, mostrando uma imagem mais atual e permitindo uma proximidade maior à população.

3.3.3 – **Melhorar a oferta aos utentes e aposta em produtos inovadores**

Deve ser realizada a caracterização das preferências dos utentes da farmácia, possibilitando a otimização da oferta. Esta otimização resultará numa resposta mais rápida e adequada às suas necessidades. Por vezes a necessidade de uma segunda deslocação à farmácia e/ou o tempo de espera para que o determinado medicamento ou produto seja adquirido, podem gerar descontentamento no seio dos utentes.

É necessária uma aposta firme em produtos inovadores, com eficácia comprovada e produção de qualidade, que permitam um distanciamento e diferenciação em relação a outras farmácias, lojas dos centros comerciais ou parafarmácias. A pesquisa de novas alternativas terapêuticas é essencial, para que conjugada com o conhecimento e a capacidade de aconselhamento por parte do farmacêutico, tornem compra destes produtos numa farmácia um hábito.

3.3.4 – **Horário de funcionamento**

A utilização de horário fixo por parte das farmácias, cada vez se torna menos usual hoje em dia. Maioria já realiza horário alargado, por isso vejo esta possibilidade como um dos passos que pode ser adotado pela Farmácia Peixoto no futuro.

Este alargamento de horário implicaria a entrada de mais profissionais, logo um aumento de custos, mas é uma situação que precisa de ser ponderada, porque neste momento vê-se ultrapassada pelas concorrentes.

3.4 – **Ameaças**

3.4.1 – **Abertura de novas lojas e parafarmácias**

Nos últimos anos temos assistido a uma banalização do processo de venda do medicamento, nomeadamente dos medicamentos não sujeitos a receita médica. Se inicialmente já era mau estes serem vendidos em parafarmácias e hipermercados, acho que terem chegado às bombas de gasolina tornou ainda mais preocupante esta situação. Esta concorrência desleal, despoletada por interesses financeiros das grandes marcas (como a exemplo a SONAE, detentora do Continente®, logo também da Wells®), que usam a 'maior comodidade por parte do doente' como desculpa para a epidémica abertura destes tipos de negócios.

A entrada destes novos *players* no mercado, dificultou ainda mais a vida das farmácias, porque o volume de compras que realiza um supermercado e parafarmácias associadas, não

é comparável ao realizado por uma pequena farmácia. Logo é possível efetuar uma pressão substancialmente superior sobre os laboratórios para a obtenção de preços inferiores, resultando na obtenção dos mesmos produtos a preços consideravelmente inferiores aos obtidos pelas farmácias. Este fator irá influenciar o preço final, que será inferior em locais detidos por estes grandes grupos.

Compete às equipas das farmácias pautarem pela prestação de serviços diferenciados e de elevada qualidade para que os utentes depositem confiança nos seus aconselhamentos e sintam que a manutenção da sua saúde e bem-estar importam para aqueles que o acabaram de servir.

3.4.2 – **Rutura de *stocks***

A rutura de *stocks* é um problema recorrente, e infelizmente não há como o combater, resta somente realizar um trabalho de prospeção e tentar manter os *stocks* equilibrados. Diariamente, um colaborador da farmácia tinha a tarefa de ligar para os nossos fornecedores, tentando encomendar a maior quantidade possível dos produtos que eram considerados rateados, tentando suprimir as nossas necessidades.

Este problema pode ser explicado pela ocorrência de exportação paralela. Esta é realizada por empresas do setor, que se aproveitam dos preços inferiores praticados no sul da Europa, para que depois possam obter lucro com a venda dos mesmo no norte do continente. Infelizmente esta prática está consignada na lei, logo não é considerada ilegal.

Alguns destes casos são graves porque afetam terapêuticas destinadas ao tratamento de doenças crónicas ou agudas. Alguns dos medicamentos que normalmente sofriam ruturas, eram por exemplo: Atozet® (ezetimiba+atorvastatina), Lovenox® (enoxaparina sódica), Pradaxa® (dabigatran etexilato), Spiriva® Cápsulas (brometo de triotrópio), Pentasa® Supositórios (mesalazina), entre outros.

Estas situações são difíceis de explicar aos utentes, porque envolvem a sua saúde e confiança na farmácia e podem resultar na perda dos mesmos para outras farmácias que possuam o medicamento em *stock*. Esta questão deve estar sempre presente na equipa de trabalho, que deve tentar prever estas quebras, possuindo um stock mínimo adequado às suas necessidades e insistindo sempre com os fornecedores para a obtenção destes produtos. A explicação desta situação também deve ser fornecida aos doentes, para que estes trabalhem em conjunto com a farmácia, informando antecipadamente das suas necessidades.

3.4.3 – **Automedicação**

Numa sociedade altamente informada, quer pelos media e/ou pela internet, é usual a recorrência à automedicação. Por isso, é importante o papel das farmácias no aconselhamento correto e no esclarecimento dúvidas dos que surgem diariamente aos seus utentes. Estes por vezes chegam à farmácia com crenças pouco claras e até contraditórias e é preciso um discurso coerente e firme para que estes as abandonem completamente.

A obtenção de informação em fontes pouco fidedignas, podem resultar em situações de automedicação e falta de adesão à terapêutica. Estes casos são recorrentes, e devem ser entendidos como desafios a superar, tendo em vista a manutenção do bem-estar e qualidade de vida do utente.

IV – Conclusão

As farmácias têm passado por um conjunto elevado de metamorfoses, algumas delas causadas pela crise, outras porque o setor estava sobrecarregado. A entrada em força das parafarmácias e venda de medicamentos não sujeitos a receita médica em supermercados e postos de abastecimento, pioraram ainda mais o cenário, que por si só já era negro.

Temos assistido a uma preferência ainda mais denunciada pelos técnicos de farmácia em detrimento dos farmacêuticos, aliada à descida dos salários praticados. Para isto contribui em grande parte a aquisição de diferentes farmácias por grupos empresariais de grande envergadura, que olham para os serviços prestados em farmácia apenas como um negócio, onde os lucros se sobrepõem às preocupações dos utentes. O caminho que está a ser seguido cada vez nos aproxima mais do operador de supermercado que nos vende medicamentos não sujeitos a receita médica (em conjunto com outros bens perecíveis), e menos com aqueles que adquiriram conhecimento numa área que outrora era considerada de excelência.

Após a realização deste estágio, considero que uma das principais lacunas presentes na nossa formação no MICF, reside na falta de preparação para a realização de trabalho de balcão. O primeiro contacto profundo com o Sifarma 2000® é realizado durante o estágio, porque até lá, este é quase uma perfeita incógnita para nós. Tive também dificuldades no aconselhamento da dermocosmético e de colírios, porque são duas áreas muito vastas e pouco abordadas na nossa formação.

O futuro avizinha-se difícil, não podemos ficar conformados e baixar os braços, temos sim é de lutar pela valorização da nossa profissão, contra aqueles que pretendem reduzir a venda de medicamentos a negócios de mercearia. Estas lutas terão de ser travadas por nós, os mais novos, em conjunto com a Ordem dos Farmacêuticos, tendo em vista a remoção dos *lobbys* que ameaçam não só o futuro da nossa profissão, mas também a saúde da população em geral.

Após este estágio é para mim mais claro o papel do farmacêutico na sociedade, este não se restringe apenas ao conhecimento mais profundo do medicamento, vai muito para além disso. Muitos dos utentes que nos procuram, pretendem muitas das vezes o conforto que não sentem com outros profissionais de saúde, uma relação de amizade, e isso é algo que devemos sempre ter em conta, porque a vida não se resume só a números.

Resta-me agradecer à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, por me ter feito crescer como pessoa e intelectualmente, contribuindo para aquilo que sou hoje, sinto que possuo um papel ativo a desempenhar na sociedade, em prol dos outros.

Um sincero obrigado a todos que me acompanharam nesta caminhada, em especial aos colaboradores da Farmácia Peixoto, que me trataram como família e contribuíram ativamente para que em sentisse um farmacêutico de pele e osso.

Parte II

RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

Bluepharma, Indústria Farmacêutica SA
Coimbra

1. Introdução

A oportunidade de estagiar na Bluepharma, permitiu um contacto mais direto com a indústria e possibilita uma abertura de horizontes para o mercado de trabalho no futuro. Na entrevista de estágio na presença do responsável pelos recursos humanos e com a minha futura orientadora de estágio, Ana Jerónimo, expus a minha vontade de estagiar no departamento de desenvolvimento de negócio (também designado por *Business Development*), porque gostava de conhecer que negócios eram realizados pela Bluepharma, com quem e que complexidade apresentavam. Felizmente, fui aceite e desempenhei funções na Bluepharma de 7 de maio de 2018 a 27 de julho, no departamento de desenvolvimento de negócios.

A Bluepharma produz e comercializa, como marca própria ou para terceiros, essencialmente formas sólidas (comprimidos e cápsulas) de libertação imediata ou modificada, mas também filmes e *sprays* orais. Pretende no futuro, com a abertura de novas instalações, proceder à iniciação da produção de injetáveis e aumentar a sua capacidade de produção.

Em 2001 um conjunto de investidores, adquiriu a unidade industrial da Bayer em Portugal, nomeadamente em Coimbra. Inicialmente era considerada uma *contract manufacturing organization*, isto é, esta trabalhava essencialmente para terceiros, fornecendo somente serviços de indústria. Mais tarde, já podia ser considerada uma *contract development and manufacturing organization*, porque além de englobar a produção industrial, realizava também desenvolvimento de formas farmacêuticas, desenvolvimento de dossiês para entrada no mercado, entre outros processos. A Bluepharma tem apostado também em co-desenvolvimentos, tendo como objetivo a obtenção de novos produtos (podem ser inovadores ou não) e com elevado valor comercial, desenvolvidos em conjunto com outras multinacionais, permitindo assim o crescimento da empresa, mas também da marca no mundo. A aposta na inovação disruptiva, tem sido um dos maiores desafios nesta fase, a ambição de criar algo novo, que permita uma melhoria no dia-a-dia das pessoas e com isso obter o reconhecimento e destaque no mundo. Esta vertente é a mais difícil, mas também a mais aliciante. A Bluepharma, está aprovada pela *U.S Food and Drug Administration*, ANVISA (Brasil), INFARMED, entre outros.

Neste relatório, além de uma breve apresentação sobre o trabalho desenvolvido pelo departamento de desenvolvimento do negócio, realizarei também uma análise SWOT,

abordando os pontos fortes (*strenghts*), os pontos fracos (*weaknesses*), oportunidades (*opportunities*) e ameaças (*threats*) que surgiram durante o período de estágio.

II. Departamento de desenvolvimento de negócio

Após a introdução anterior sobre a atividade da empresa, é possível explicar um pouco o funcionamento do departamento de desenvolvimento de negócio. Este departamento, é o primeiro contacto com outras empresas, quer sejam estas 'vendedoras' ou 'compradoras'. Os negócios realizados pelo departamento englobam a compra de princípios ativos, a realização de contratos de co-desenvolvimento, *licensing,* contratos de produção e distribuição.

Os contratos de co-desenvolvimento, são realizados em conjunto com outras empresas farmacêuticas, tendo em vista o desenvolvimento de um produto e/ou a entrada deste em mercados específicos, para os quais a Bluepharma possui aprovação das autoridades competentes (como por exemplo o Brasil (ANVISA)). A empresa possui ainda capacidade de conduzir ensaios clínicos (a partir da BlueClinical), a realização de desenvolvimento galénico e de dossiês de autorização de entrada no mercado (pela equipa de Assuntos Regulamentares).

Os contratos de *licensing*, de uma forma resumida, são realizados pela necessidade de uma empresa entrar num mercado específico, e para isso compra os serviços oferecidos pela Bluepharma, no campo de desenvolvimento de um dossiê de autorização de entrada no mercado. Quando se trata de um contrato de produção, este visa a possibilidade da Bluepharma, produzir para outra marca. Isto normalmente ocorre porque outras empresas não possuem os parâmetros pretendidos por autoridades de mercados alvo, ou porque possuem a sua capacidade de produção no limite. Os contratos de distribuição, são realizados em situações em que outras empresas querem entrar no mercado com a marca Bluepharma, passando estes contratos para o domínio da Bluepharma Genéricos.

Fora das horas em que discutem/revêm termos de contratos e procuram novas oportunidades para a Bluepharma, os membros do departamento de desenvolvimento de negócio, dedicam-se a elaborar cotações (que permitem obter informações sobre os valores que constam em cada contrato), apresentações de novos produtos tendo em vista a exposição destes em feiras ou reuniões com clientes (pipeline da empresa), estudos do mercado, análises patentearias e compilam todas as informações numa base de dados, o SalesForce®, que promete ser uma das maiores ferramentas da empresa no futuro.

III. Análise SWOT

Durante os três meses de estágio, compilei algumas informações que me permitiram realizar uma análise SWOT, que visa uma referência aos pontos fortes, as suas fraquezas, oportunidades e ameaças, que estão relacionadas não somente ao estágio, mas também ao dia-a-dia da Bluepharma.

3.1 – **Pontos Fortes**

3.1.1 – **Receção e ambiente**

O sentimento de medo de como seria o primeiro dia na Bluepharma, ficou dissipado nas primeiras horas. A rece-ão em conjunto com os colegas de curso, permitiu a troca de algumas impressões, e percebemos que estávamos todos um pouco nervosos, mas após a apresentação (realizada em todos os departamentos da empresa), ficamos mais à vontade, porque sentimos que todos colaboradores nos fizeram sentir parte daquele todo.

Quando conheci a equipa que me acompanhou durante este estágio, senti que estava perante uma equipa jovem, que me colocou perfeitamente à vontade para perguntar tudo, 'incomodar' sempre que necessário, porque todos começaram assim, um pouco perdidos, às escuras sobre o que faz um farmacêutico atrás de um computador a estudar o mercado e a discutir contratos.

No início o que procurei fazer era passar algum tempo junto de cada colaborador do departamento para que fosse possível entender melhor as tarefas desempenhavam. Durante a primeira semana, tive o primeiro contacto com a plataforma SalesForce®, esta permite alocar todos os dados referentes a negócios, cálculo de cotações, compras de princípios ativos, dados de empresas (incluindo os seus principais contactos) e oportunidades de negócios. Esta plataforma permite a obtenção de relatórios sobre a empresa, que albergam informações sobre o desempenho da empresa, incluindo os negócios em curso, os que falharam (o porquê), os valores envolvidos e os ganhos possíveis.

Esta plataforma ainda se encontra em desenvolvimento e testes, por isso, durante este estágio colaborei em conjunto com os meus colegas e com a equipa de informática na aferição e submissão de informações sobre empresas, contactos e contratos que permitissem o enriquecimento da informação que esta alberga. Após este primeiro contacto, passei para outras tarefas, nomeadamente para a realização de apresentações de produtos, análises patentearias e de mercado e revisões de contratos.

O ambiente na empresa era muito saudável, as minhas interações com os outros departamentos foram sempre muito produtivas, nomeadamente na obtenção de dados que permitissem completar as informações no SalesForce®, (como por exemplo o preço por quilograma de cada princípio ativo utilizado pela Bluepharma) e na realização da apresentação para vários departamentos de um projeto de co-desenvolvimento,

3.1.2 – **Equipa do departamento de desenvolvimento de negócio**

Os meus colegas de departamento, preocuparam-se em colocar-me a par das principais ferramentas que utilizavam, para isso realizaram formações no gabinete, sobre como usar e para que serviam as diferentes plataformas.

Comecei por ler várias edições do "*Generics Bulletin*", com o objetivo de ficar mais conhecedor da atualidade do mercado farmacêutico. Depois disso, recebi formações sobre diferentes temas, aprendi a realizar uma análise patentearia e perceber que que diferenças existem entre os Estados Unidos e a Europa, no que toca à possibilidade de entrada no mercado, e como usar o *Ark patent intelligence* (uma base de dados que compila dados sobre patentes do *Top* 5 de Europa (França, Reino Unido, Alemanha, Itália, Espanha) e Estados Unidos.

Recebi formação sobre como realizar uma análise do mercado, recorrendo ao IQVIA® (IMS) e como tratar os dados recolhidos, com o objetivo de obter informações sobre que mercado possui um maior potencial de crescimento e de que forma têm evoluído as vendas nos últimos três anos de determinado produto.

Realizei também a elaboração de apresentações de vários produtos pertencentes ao *portfolio* da Bluepharma, em que englobava a análise patentearia, os dados do mercado, e outras informações relativas às indicações do produto e forma farmacêutica. Estas apresentações eram realizadas tendo em vista uma apresentação futura a parceiros e clientes.

A minha última tarefa, foi-me proposta pela diretora do departamento, a Ana Jerónimo, que me lançou o desafio de sugerir uma apresentação alternativa à utilizada pela empresa. O objetivo era fornecer um aspeto visual mais atual e adequado à imagem da empresa.

Outro fator que é importante referir é a autonomia dada durante os trabalhos realizados, permitindo liberdade criativa e a possibilidade de expor a opinião crítica sobre determinados aspetos.

3.1.3 – **Formação contínua**

Uma das principais apostas da Bluepharma é a formação contínua, com o objetivo do aumento de conhecimento e melhoramento de processos dentro da empresa. Foram realizadas mais de 10 formações que abordaram várias áreas, desde as plataformas *Ennov*® (onde é realizada a gestão documental da empresa e se albergam todos os processos), SucessFactors (plataforma de gestão das formações na empresa), passando pelo trabalho desenvolvido noutros departamentos como por exemplo nos Assuntos Regulamentares, Qualidade Informática, Investigação, até às estratégias que estão a ser implementadas de melhoria continua (5S ou o 6σ).

3.2 – **Pontos Fracos**

3.2.1 – **Conhecimento da indústria farmacêutica**

No início do estágio, senti que tudo 'aquilo' era novo para mim, e que apenas alguns dos termos eram conhecidos e que maioria dos processos, plataformas utilizadas e métodos de pesquisa de informação eram totalmente novos. Achei por isso que a nossa formação académica possui algumas lacunas nesta área, porque se foca muito na preparação do farmacêutico de oficina, não fornecendo luzes sobre como é organizada uma indústria e que ferramentas são utilizadas hoje em dia na avaliação de mercados e patentes.

3.2.2 – **Cantina e Estacionamento**

Penso que a qualidade das refeições fornecidas pela cantina da Bluepharma (serviço contratado) pode ser melhorada, bem como a capacidade de extração de ar durante a confeção das mesmas, porque após a refeição, era comum a presença de cheiro nas roupas.

Pelo que me apercebi durante o período de estágio, o problema relacionado com a falta de estacionamento é já um problema antigo da empresa, aliado ao facto da localização da mesma junto à Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra, dificulta ainda mais a tarefa na procura desenfreada por um lugar.

3.3 – **Oportunidades**

3.3.1 – **Possibilidade da realização de estágio em indústria**

Considero a possibilidade de realização deste estágio em indústria (além do realizado anteriormente em farmácia comunitária), um privilégio, porque infelizmente nem todos os meus colegas conseguiram e também porque existem outras universidades do país que só permitem a realização deste estágio após o término do curso.

Esta aprendizagem permitiu-me abrir novos horizontes para a minha carreira profissional, porque agora conheço um pouco mais das funções que um farmacêutico pode desempenhar na indústria farmacêutica e o papel fulcral que este desempenha em várias áreas, por vezes totalmente desconhecidas para nós. É importante referir que este estágio possibilitou o contacto com métodos e plataformas que eram até agora totalmente desconhecidas, permitindo assim que no futuro se desempenhar funções numa indústria não comece do zero, mas sim com algumas bases apreendidas nestes três meses.

3.3.2 – **Nova área industrial da Bluepharma**

A Bluepharma pretende entrar no mercado dos injetáveis, para isso está a ponderar a construção de uma nova unidade de fabrico, que albergue todas as especificações necessárias para a produção destas formas farmacêuticas. A entrada neste mercado, está aliada ao facto da possibilidade de comercialização de medicamentos anti tumorais, que se revela um mercado em crescimento e que movimenta elevadas quantias monetárias.

A obtenção de uma nova unidade de fabrico, vai permitir também uma maior capacidade de produção de formas orais sólidas, correspondendo assim a um maior fluxo de negócios da empresa.

3.3.3 – **Divulgação do trabalho desenvolvido junto da comunidade**

Antes de entrar na Bluepharma, não tinha noção do tamanho que esta possui, nem da quantidade de colaboradores que alberga. O grupo Bluepharma, engloba a Bluepharma Indústria, a Bluepharma Genéricos, a BlueClinical, a Luzitin, a InovBlue, a Treat-U, a BSIM^2 e a Technophage, (entre outros), e possui cerca de 400 colaboradores. Por isso, penso que se devia apostar mais na divulgação daquilo que de melhor se faz em Portugal, porque maioria das pessoas não conhece o potencial e a grandeza desta empresa.

3.4 – **Ameaças**

3.4.1 – **Multinacionais**

A entrada de grandes empresas farmacêuticas no ramo dos genéricos, leva a que por vezes empresas mais pequenas, como o caso da Bluepharma, não possuam a capacidade competitiva pretendida no que toca a preços praticados. Por isso, este fator deve ser entendido como uma ameaça, mas também como uma oportunidade de continuar a pautar pela excelência de serviço prestado.

3.4.2 – **Infraestruturas**

Devido ao elevado fluxo de entrada de colaboradores, aliado ao curto espaço físico da empresa, é percetível uma dificuldade acrescida na alocação dos colaboradores. A nível industrial, a capacidade de produção e de armazenamento, chegaram quase ao limite, sendo que a solução passa pela edificação de novas instalações.

3.4.3 – **Trabalho no departamento de desenvolvimento de negócios**

O trabalho desenvolvido no departamento de desenvolvimento de negócio, pode por vezes ser desgastante e desanimador. Muito do tempo despendido na realização de determinado contrato e em incessantes de negociações, pode resultar em nada (taxa de sucesso inferior aos 10%), e por vezes é difícil lidar com a frustração e a incapacidade na obtenção dos objetivos inicialmente definidos.

IV – Conclusão

Considero-me um privilegiado por ter pertencido, durante 3 meses à família Bluepharma, foi durante este curto período, que ganhei conhecimentos e amizades para um período bem mais longo.

A nível profissional, sinto que esta experiência contribuiu ativamente para o meu conhecimento da indústria farmacêutica, nomeadamente do trabalho desenvolvido pelo departamento de desenvolvimento de negócio. Aprendi que devemos estar atentos, ser destemidos, persistentes e nunca dar nada por perdido, como diziam os meus colegas de departamento 'as negociações de contratos são como um combate de boxe, é decidido por *rounds*, e às vezes ganhas, outras vezes levas porrada'. A nível pessoal, além de ter ganho amigos, desenvolvi também o meu espírito crítico, capacidade de decisão e autonomia. Este estágio permite também a possibilidade tornar o meu currículo mais rico, com a passagem por uma das empresas mais importantes do país.

Foi possível contactar com realidades diferentes daquelas que experienciei em farmácia comunitária, porque estamos em locais diferentes da cadeia do medicamento, estamos mais próximos da origem e não tão perto dos seus efeitos diretos. Em farmácia comunitária, lidamos mais diretamente com a vida das pessoas, as suas dificuldades socioeconómicas e por vezes surge um sentimento de impotência na capacidade do melhoramento do nível de vida dos doentes que visitam a farmácia. Por outro lado, na indústria, nomeadamente em trabalhos realizados em escritórios (não em chão de fábrica), o número de horas em frente ao computador e o estilo de vida mais sedentário, são aspetos que devem ser tidos em conta.

Resta-me agradecer a toda a família Bluepharma que me recebeu de braços abertos e me fez crescer como pessoa e intelectualmente. Tenho de agradecer de uma forma especial à minha orientadora e diretora do departamento de desenvolvimento de negócio, à Ana Jerónimo. E claro a agradeço a toda a equipa fantástica, composta pelo Tobias Silva, Margarida Neves, Carlos Andrade, Vanda Vicente, Daniel Santos, Diogo Teixeira, Nancy Escada, Carolina Pires e a Patrícia Freitas, pelos ensinamentos transmitidos, e essencialmente por me terem acolhido de uma forma tão especial.