

Kevin António Rodrigues

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Cytochrome P450 Involvement with Brain Metabolism and Neurodegenerative Diseases” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Olga Simões, da Dra. Capitolina Pinho e da Professora Doutora Joana Bicker de Melo Alves Aparício e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Kevin António Rodrigues

Relatórios de Estágios e Monografia intitulada “Cytochrome P450 Involvement with Brain Metabolism and Neurodegenerative Diseases” referentes à Unidade Curricular “Estágio” sob orientação, da Dr.<sup>a</sup> Olga Simões, da Dr.<sup>a</sup> Capitolina Pinho e da Professora Doutora Joana Bicker de Melo Alves Aparício e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

.....Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Kevin António Rodrigues, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2013143961, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo dos Documento Relatórios de Estágios e Monografia intitulada “Cytochrome P450 Involvement with Brain Metabolism and Neurodegenerative Diseases” 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, 7 de setembro de 2018.

*Kevin António Rodrigues*

*“Ah, but a man's reach should exceed his grasp,  
Or what's a heaven for?”*

**Robert Browning**

## **Agradecimentos**

*Começo por agradecer à Plural, meu primeiro local de estágio que por dois longos meses se tornou como uma segunda casa para mim. Um especial agradecimento à Dr.ª Olga Simões, minha orientadora de estágio, e a todos os membros da Plural por me acolherem e me fazerem sentir parte da grande família que é a Plural.*

*Agradeço à Dr.ª Capitolina Pinho, minha orientadora de estágio, e a toda equipa técnica da Farmácia Figueiredo por me acolher e por tudo o que me ensinou, desde os mais pequenos detalhes aos mais importantes conhecimentos relativos ao funcionamento de farmácia comunitária. Conhecimentos assim não se conseguem em qualquer lugar.*

*À Professora Doutora Joana Bicker de Melo Alves Aparício, um imenso obrigado pela sua disponibilidade e orientação prestada. Sem si isto também não seria possível.*

*À minha mãe, por toda a preocupação e capacidade de me reconfortar quando a minha ansiedade se apoderava de mim.*

*Ao meu pai pela confiança, preocupação e pela oportunidade de o rever neste meu último ano.*

*A toda a minha família que ainda é longa e que me acompanhou nesta fase, agradeço todo o amor, confiança e apoio.*

*À Bea e à Ana, agradeço acima de tudo por vos ter na minha vida. Podemos não ser família de sangue, mas os amigos são a família que escolhemos, e esta amizade é uma que levo comigo até ao fim da minha vida. Se já temos aventuras desde os 3 anos de idade, escusado será dizer que não acabarão tão cedo.*

*Ao Ricardo, pelas conversas mais nonsense e mesmo assim às vezes profundas que uma pessoa consegue ter, agradeço todo o apoio.*

*À Cadima, agradeço a mistura de seriedade e loucura que só se pode obter de uma colega de casa como tu, as múltiplas visitas ao BK com a Mariana Oliveira quando chegava já tarde sem forças para cozinhar. E agradeço também á primeira frequência de Física Aplicada por nos aproximar.*

*Ao Bacelar por mais um irmão que levo para a vida. Quase 5 anos depois de uma simples febrada e aqui continuamos e sei que continuaremos.*

*Aos meus afilhados, por todos os risos e memórias que levo.*

*A todos os meus restantes amigos que não consegui aqui mencionar, agradeço todo o apoio, força e acima de tudo, a paciência necessária para me conseguir aturar.*

*Last but not least.*

*A ti Sara. Agradeço te o mundo. Agradeço te a força nos dias em que achava que não conseguia mais. O conforto nos dias em que o próprio ato de respirar parecia impossível. O apoio nos dias em que a minha ansiedade falava mais alto. Os abraços nos dias mais escuros. Os sorrisos nos dias mais brilhantes. Palavras não chegarão para poder expressar o quanto te agradeço tudo.*

*A todos, o meu mais sincero obrigado.*

## Índice

<b>Parte I- Relatório de Estágio Distribuição Grossista de Medicamentos.....</b>	<b>10</b>
1. Abreviaturas e Siglas .....	11
2. Introdução .....	12
3. Análise SWOT.....	13
3.1. Pontos Fortes.....	13
3.2. Pontos Fracos .....	15
3.3. Oportunidades.....	16
3.4. Ameaças.....	18
4. Considerações Finais .....	20
5. Bibliografia .....	21
<b>Parte 2- Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária .....</b>	<b>22</b>
1. Abreviaturas e Siglas .....	23
2. Introdução .....	24
3. Análise SWOT.....	25
3.1. Pontos Fortes.....	25
3.1.1. Localização e os seus utentes .....	25
3.1.2. <i>Back Office</i> .....	26
3.1.3. Equipa técnica .....	27
3.1.4. Flexibilidade de horário .....	27
3.1.5. Aprendizagem contínua .....	28
3.2. Pontos Fracos .....	29
3.2.1. Primeiro contacto com farmácia comunitária .....	29
3.2.2. Tempo reduzido de atendimento .....	29
3.2.3. Conhecimento limitado a nível de Dermocosmética .....	29
3.3. Oportunidades.....	30
3.3.1. Fitoterapia e homeopatia .....	30
3.3.2. Dieta <i>Easyslim</i> .....	30
3.3.3. Preparação semanal de medicação .....	31
3.3.4. Metodologia <i>Kaizen</i> .....	32
3.3.5. Desenvolvimento de <i>soft skills</i> .....	32
3.4. Ameaças.....	33
3.4.1. Localização da farmácia .....	33
3.4.2. Medicamentos esgotados ou rateados .....	33
4. Casos Práticos .....	34
4.1. Tratamento de ferida aberta .....	34
4.2. Obstipação .....	34
5. Conclusões.....	35

6. Bibliografia .....	36
7. Anexos.....	38
7.1. Anexo 1 – Disposição da Farmácia Figueiredo .....	38
7.2. Anexo 2 – SPD.....	39
7.2.1. SPD por preencher.....	39
7.2.2. SPD Preenchido .....	39
7.3. Anexo 3 – Questionário de vacinas .....	40
7.4. Anexo 4 – Fotografia Dia da Mãe .....	44
7.5. Anexo 5 – Publicidade Eucerin® .....	45
7.6. Anexo 6 – Publicidade Colilen® .....	46
7.7. Anexo 7 – Publicidade Caudalie® .....	47
7.8. Anexo 8 – Linear produtos íntimos .....	48
<b>Parte 3 – Cytochrome P450 Involvement with the Brain.....</b>	<b>49</b>
<b>Resumo .....</b>	<b>50</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>51</b>
<b>Abbreviations .....</b>	<b>52</b>
<b>1. Introduction .....</b>	<b>53</b>
<b>1.1. Functions, locations and families .....</b>	<b>54</b>
<b>1.2. CYP450 modulation.....</b>	<b>56</b>
<b>1.2.1. Induction and activation.....</b>	<b>56</b>
<b>1.2.2. Inhibition.....</b>	<b>58</b>
<b>2. Brain metabolism .....</b>	<b>60</b>
<b>2.1. CYP450 brain distribution.....</b>	<b>60</b>
<b>2.2. Brain metabolism.....</b>	<b>62</b>
<b>2.2.1. CYP450 effects in the brain .....</b>	<b>62</b>
<b>2.2.2. CYP450 involvement in neurodegenerative disorders.....</b>	<b>65</b>
<b>2.2.2.1. Parkinson’s disease (PD) .....</b>	<b>65</b>
<b>2.2.2.2. Alzheimer’s disease (AD).....</b>	<b>66</b>
<b>3. Conclusion.....</b>	<b>68</b>
<b>4. References.....</b>	<b>70</b>

## Índice de Tabelas

### **Parte I - Relatório de Estágio em Distribuição Grossista de Medicamentos**

<b>Tabela 1</b> - Análise SWOT referente ao estágio em Distribuição Grossista de Medicamentos .....	13
---	----

### **Parte 2 - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária**

<b>Tabela 2</b> - Análise SWOT referente ao estágio em Farmácia Comunitária .....	25
---	----

### **Parte 3 - Cytochrome P450 Involvement with Brain Metabolism and Neurodegenerative Diseases**

<b>Table 1</b> - CYP450 nomenclature.....	56
---	----

<b>Table 2</b> - Summary table of CYP450s in the Brain.....	69
---	----

## Índice de Imagens

### **Parte 3 - Cytochrome P450 Involvement with the brain**

<b>Figure 1</b> - CYP450 catalytic cycle.....	55
---	----

<b>Figure 2</b> - CYP3A induction by rifampicin.....	57
--	----

<b>Figure 3</b> - CYP450s expression in the whole brain as a percentage from total CYP450 expression.....	61
---	----

## Parte I - Relatório de Estágio Distribuição Grossista de Medicamentos

*"If everyone is moving forward together, then success takes care of itself."*

**Henry Ford**

## **I. Abreviaturas e Siglas**

ASAE – Autoridade de Segurança Alimentar e Económica

BPD – Boas Práticas de Distribuição

DGAV – Direção-Geral de Alimentação e Veterinária

DT – Diretor(a) Técnico(a)

FIFO – *First In First Out*

GAP – Gabinete de Atendimento Personalizado

LI – Logística inversa

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

PTT – *Picking To Tote*

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

## 2. Introdução

A PLURAL – COOPERATIVA FARMACÊUTICA, CRL, doravante designada por Plural, é uma das principais empresas de distribuição grossista farmacêutica em Portugal que resultou da fusão em 2006 da empresa Farbeira – Cooperativa dos Farmacêuticos do Centro Crl, com a Cofarbel, Crl e da Farcentro, Crl, passando ainda pela designação Farbeira Cofarbel Farcentro – Cooperativa Farmacêutica, Crl, até que alterou para a atual designação em 2008. A Plural atualmente encontra-se distribuída por 75% do território português, estado sediada em Loreto, Coimbra, num novo edifício desde 2017 e com 5 Plataformas Logísticas em Caldas da Rainha, Tortosendo (Covilhã), Faro, Montijo e Maia (Porto). A sua missão é “aprovisionar, armazenar e distribuir medicamentos aos nossos cooperadores, nas melhores e mais adequadas condições de acordo com as Boas Práticas de Distribuição e no mais curto espaço de tempo”.(1)

Segundo o Decreto-Lei 176/2006, de 30 de agosto, a distribuição por grosso é a “atividade de abastecimento, posse, armazenagem ou fornecimento de medicamentos destinados à transformação, revenda ou utilização em serviços médicos, unidades de saúde e farmácias, excluindo o fornecimento ao público” e o titular de autorização de distribuição por grosso de medicamentos deve “dispor permanentemente de medicamentos em quantidade e variedade suficientes para garantir o fornecimento adequado e contínuo do mercado geográfico relevante, de forma a garantir a satisfação das necessidades dos doentes”.(2) O farmacêutico em distribuição grossista, segundo o código deontológico da ordem dos farmacêuticos, “deve cumprir e fazer cumprir as normas respeitantes ao armazenamento, conservação e distribuição de produtos farmacêuticos e zelar pela sua segurança e condições de higiene e manutenção, em conformidade com as boas práticas de distribuição”.(3)

### 3. Análise SWOT

O meu estágio teve início a 10 de janeiro e término a 23 de fevereiro, compreendendo um total de 270 horas, e foi orientado pela Dr.<sup>a</sup> Olga Simões.

**Tabela I.** Análise SWOT referente ao estágio em Distribuição Grossista de Medicamentos

Pontos Fortes	Pontos Fracos
<ul style="list-style-type: none"><li>• A automatização de todo o processo de receção, arrumação e aviamento;</li><li>• Gestão do <i>stock</i> e a sua importância;</li><li>• Ligação com as indústrias e as farmácias;</li><li>• Tarefas realizadas a gestão e organização do inventário;</li><li>• Alimentação e transporte.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• O medicamento como uma mercadoria;</li><li>• Função rotineira no estágio;</li><li>• Aplicação de conhecimentos científicos limitada;</li><li>• A quantidade reduzida de tarefas para a duração do estágio.</li></ul>
Oportunidades	Ameaças
<ul style="list-style-type: none"><li>• Contacto com o medicamento antes de farmácia comunitária;</li><li>• Aprendizagem do percurso do medicamento antes de chegar à farmácia.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Pouca quantidade de pessoal farmacêutico;</li><li>• A função do farmacêutico em distribuição grossista.</li></ul>

#### 3.1. Pontos Fortes

A minha primeira experiência no estágio na Plural foi com o Gabinete de Atendimento Personalizado (GAP). Aqui pude observar a relação de proximidade que a Plural mantém com as farmácias. Aqui os operadores conseguem auxiliar as farmácias em qualquer dúvida que tenham, qualquer reclamação que queiram fazer ou informar de qualquer devolução. Uma das preocupações da Plural é que o máximo de chamadas sejam atendidas e de forma satisfatória, permitindo manter esta relação.

No final do meu estágio tive a oportunidade de conhecer a Logística Inversa (LI), presente no momento ainda nas antigas instalações da Plural, responsáveis por encaminhar os produtos danificados, as devoluções ou as recolhas de volta para as indústrias e laboratórios,

que por sua vez emite nota de crédito ou então pode mesmo trocar por produtos com nova validade. Esta representa uma mais-valia tanto para as farmácias clientes como para a própria Plural permitindo a ligação com a indústria, mantendo assim uma boa relação de confiança e fidelização.

Dentro do armazém pude aperceber-me do nível de automatização em todos os processos realizados. O uso de sistemas eletrónicos, máquinas variadas, equipamentos de radiofrequência, tapetes automáticos equipados de vários leitores de códigos de barras que servem de *checkpoints* agilizam os processos de receção de encomendas, arrumação e aviamento, reduzindo e evitando quaisquer erros humanos que possam ocorrer.

No meu último mês de estágio foi-me proposto realizar duas tarefas diferentes para além das que já estava a realizar. A primeira era ajudar na catalogação e identificação das posições de reposição. Na reposição encontram-se todos os excedentes de produtos em *stock* que são transferidos para as suas respetivas posições quando é preciso repor o *stock*. Os operadores conseguem fazer isto graças aos aparelhos de radiofrequência quando o chefe de armazém envia o pedido de reposição. No aparelho aparece qual o produto a ser repostado, a quantidade necessária e a sua localização na reposição. Cada posição encontra-se identificada com um código de barras que os operadores necessitam obrigatoriamente de ler com o aparelho para poderem avançar no processo.

A outra tarefa que realizei na Plural foi a verificação manual de *stock* e validade dos produtos nas ruas. As ruas são uma das secções por onde os “baques” ou “banheiras” passam no processo de aviamento de encomendas e onde se encontram grande parte dos produtos. Com uma equipa de 7 pessoas fomos confirmando todas as posições dos produtos e o prazo de validade, verificando que estes se encontravam arrumados de forma adequada. A arrumação segue a regra “*first in, first out*” (FIFO), ou seja, os produtos são colocados por ordem consoante a validade, sendo que os que possuem validade mais longa são colocados atrás dos com validade inferior para permitir que estes sejam escoados primeiro. Esta tarefa é importante para confirmar que todo o processo de receção e arrumação ocorre corretamente e sem trazer prejuízos para a Plural, ajuda a própria empresa a ter um melhor controlo do *stock*. Qualquer medicamento que fosse encontrado com um prazo de validade inferior a 4 meses era separado e direcionado para a LI para ser devidamente devolvido.

Devido à localização do armazém da Plural, tive a possibilidade de partilhar transporte com um dos colaboradores, demonstrando a preocupação e amabilidade desta equipa.

Aponto ainda o facto de a Plural disponibilizar refeições a todos os seus colaboradores, incluindo os estagiários, como uma mais-valia para o meu estágio, permitindo relacionar-me mais com toda a equipa e estabelecer uma melhor relação de confiança com todos.

### **3.2. Pontos Fracos**

Dentro das atividades realizadas por mim na Plural, poucas ou nenhuma foram as aplicações dos conhecimentos científicos que adquiri ao longo do meu percurso académico.

As funções da DT recaem sobre:

- Manter as BPD;
- Monitorizar os movimentos de medicamentos psicotrópicos, estupefacientes e substâncias químicas;
- Gerir os recursos humanos da empresa, garantindo a quantidade e qualidade das pessoas capazes de realizar os processos da Plural;
- Acompanhar os objetivos estabelecidos pela Plural;
- Validar a entrada de qualquer material na Plural;
- Realizar e acompanhar auditorias/inspeções e tratar de qualquer não conformidade detetada;
- Acompanhar todos os processos de recolha de produtos;
- Esclarecer dúvidas a nível de condições comerciais e reclamações feitas à empresa;
- Relacionamento com entidades externas como Infarmed, DGAV, ASAE.

Estas eram atividades que não podia realizar, apenas compreender na teoria. Desta forma não me era possível sempre acompanhá-la ao longo dos dois meses de estágio. As minhas tarefas resumiam-se a funções de arrumação e aviamento no armazém, tornando o trabalho muito rotineiro e por vezes tornando-se desmotivante. Sendo que o tempo mínimo de estágio é dois meses, a quantidade de tarefas me permitidas realizar ajudaram a este ambiente de rotina.

Aponto também que com este estágio, dentro do armazém o medicamento acaba por ser considerado como mais uma mercadoria, a única diferença estando nas condições específicas de armazenamento, nomeadamente para os medicamentos de frio e os psicotrópicos. Esta desvalorização contribuiu também para a desmotivação inicial do estágio.

### 3.3. Oportunidades

O meu estágio na Plural ocorreu antes do meu estágio em farmácia comunitária, o que permitiu familiarizar-me com vários medicamentos, conhecer diferentes laboratórios e até mesmo relacionar nomes comerciais aos fármacos correspondentes, o que se tornou uma mais-valia no seguinte estágio.

Durante o meu estágio tive a oportunidade de observar e auxiliar todo o percurso do medicamento desde a sua chegada ao armazém até ao seu aviamento após receção de encomenda por parte da farmácia. Devido à grande automatização do armazém todo o processo consegue ser realizado rápida e eficazmente, melhorando a qualidade do serviço prestado. Ao chegar ao armazém, a quantidade e dimensões do medicamento são introduzidas no sistema colocando-o em *stock*. O sistema então informa a quantidade a colocar no baque que será identificado pelo código de barras para ser transportado pelos tapetes automáticos até aos locais correspondentes. Sendo que as posições para cada medicamento são finitas, os excedentes são armazenados separadamente em reposição para serem depois transportados para as posições quando a sua quantidade diminui. Ao longo dos tapetes automáticos os “baques” são direcionados para as secções correspondentes para os operadores, através dos aparelhos de radiofrequência, arrumarem na posição correspondente. Estes aparelhos e o próprio sistema melhoram a produtividade do sistema e reduzem a quantidade de erros: na arrumação de medicamentos o operador tem que ler primeiro o baque para saber qual a posição para arrumar, tem que de seguida ler o código de barras do produto, arrumar e por fim ler o código de barras da posição que conclui a sua arrumação. O chefe de armazém têm acesso às encomendas que são feitas pelas farmácias e é o que dá início ao processo de aviamento das encomendas através do computador. Iniciando o aviamento, o sistema informático identifica a quantidade de “baques” necessários para cada encomenda e identifica-os pelos códigos de barras correspondentes em cada. Os “baques” percorrem então os tapetes automáticos, equipados com múltiplos leitores de códigos de barras antes de vários *checkpoints*, sendo direcionados para as secções necessárias.

A primeira secção é o *A-frame*, onde os operadores apenas carregam o aparelho com múltiplas embalagens de medicamentos em posições devidamente identificadas e este automaticamente dispensa a quantidade necessária para ser transportada para o baque. Uma das principais preocupações desta secção é garantir que as posições não se esgotam de medicamentos, o sistema é sensível o suficiente para reparar quando isto acontece, havendo um checkpoint mesmo após esta secção onde os “baques” que não receberam as quantidades

necessárias são separados automaticamente mas o operador é que tem de ler e carregar o baque manualmente com as faltas. Aqui pude aperceber-me de uma das causas de várias devoluções por parte das farmácias. Ao carregar o *A-frame* por vezes os medicamentos podem encravar o que por vezes leva a danos nas embalagens. Estes danos podem apenas ser estéticos, não danificando os medicamentos, ou então pode ser necessário devolver ou dar quebra do produto.

A secção seguinte são as ruas onde o processo é semiautomático. Estas ruas possuem múltiplas estantes todas com 6 andares que podiam ter múltiplas posições, dependendo das dimensões dos produtos correspondentes. Os tapetes transportam os “baques” até às porções das ruas correspondentes aos produtos necessários e aqui os operadores começam o processo de *picking* por ler o código de barras do baque através do aparelho radiofrequência, que identifica o medicamento necessário, a sua posição e quantidade necessária; leem o código de barras do medicamento e colocam-no no baque. Se a quantidade necessária do mesmo produto for superior a uma unidade, o operador tem que confirmar a quantidade manualmente no aparelho para poder saber quais os produtos seguintes, se for apenas uma unidade, o aparelho passa para o produto seguinte automaticamente após leitura do código de barras do produto. Quando terminam o *picking* do último produto leem o código de barras do baque para dar como terminado e para poder prosseguir para a secção seguinte.

De seguida os “baques” podiam ainda passar na secção do carrossel onde o tipo de aviamento é o *Picking To Tote* (PTT). Aqui os medicamentos encontram-se arrumados em três torres inacessíveis ao operador com múltiplos “baques” distintos dos que são entregues às farmácias. Estes “baques” têm a particularidade de terem dimensões diferentes dos restantes e de poderem ser divididos em 2 ou 4 porções. Ao ser gerada uma guia de aviamento o sistema automaticamente localiza e extrai o baque correspondente com os medicamentos das torres, atravessando depois um curto tapete até chegar ao operador. Aí o sistema identifica com uma luz vermelha qual das zonas contem o produto necessário e num ecrã identifica a quantidade necessária retirar. O operador tem o baque onde vai colocar os produtos abaixo do baque de onde os retira e entre estes o sistema projeta uma rede de infravermelhos, quantificando a quantidade de produtos inseridos no baque.

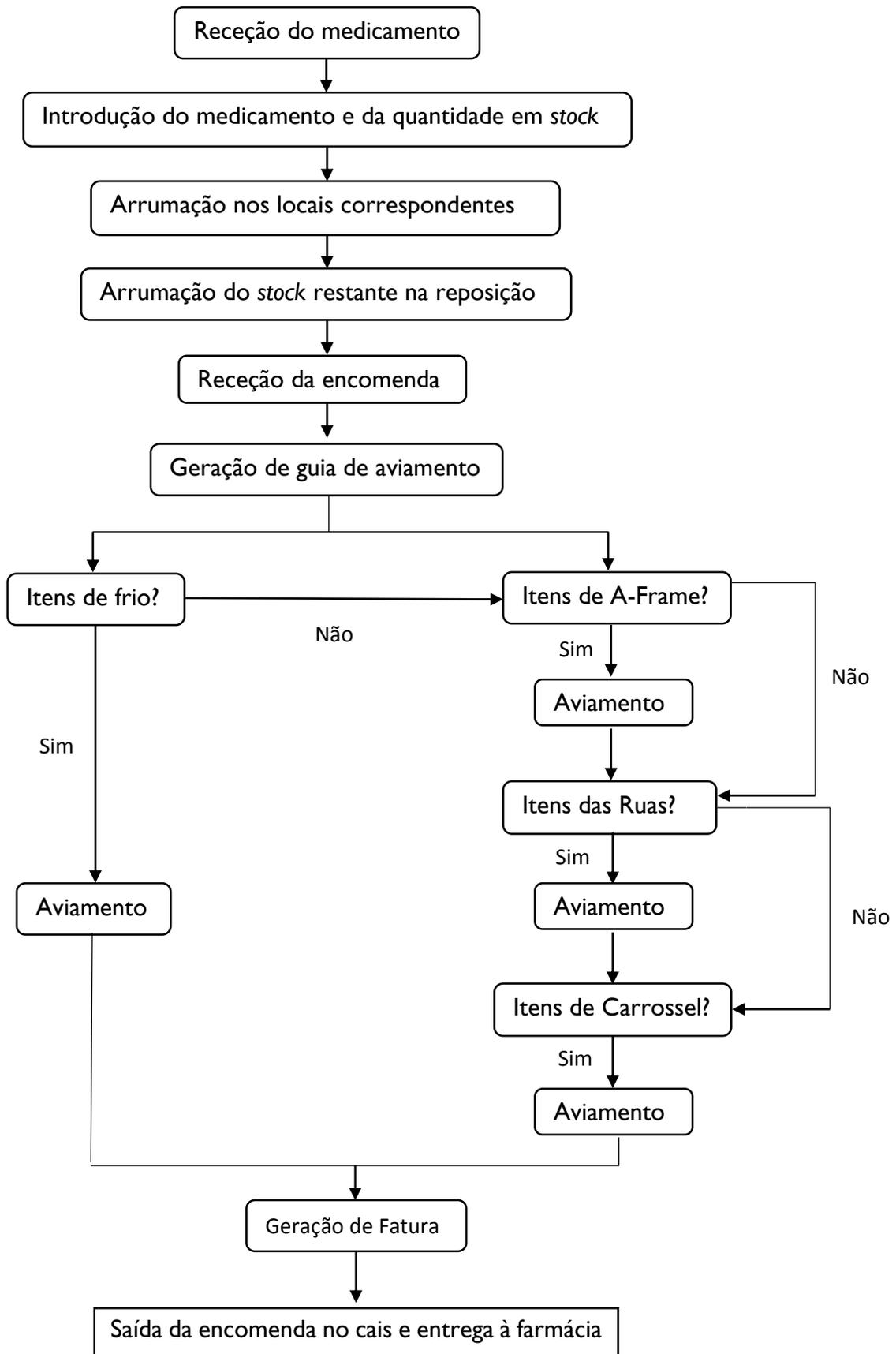
A secção de frio é distinta das restantes no sentido em que os “baques” que passam nesta secção não passam nas restantes, enquanto os que passam nas restantes podem passar em mais que uma. Aqui o operador tem de ter um cuidado extra no processo de aviamento. Como se tratam de medicamentos que precisam de ser armazenados em condições específicas de temperatura (2-8°C), o operador coloca primeiro uma caixa de esferovite dentro do baque

e dentro desta coloca uma a duas cuvetes congeladas consoante a quantidade de medicamentos. O medicamento é colocado dentro de um saco de plástico para evitar que este se danifique com o a condensação formada á superfície das cuvetes à medida que estas descongelam.

### **3.4. Ameaças**

A única função que um farmacêutico pode exercer em distribuição grossista de medicamentos é a de diretor técnico (2), limitando o envolvimento e número de profissionais farmacêuticos neste sector. As funções do DT, como já mencionadas no ponto 3.2. recaem sobre temas pouco explorados no MICF, nomeadamente nas unidades curriculares: Gestão e Garantia da Qualidade, Organização e Gestão Farmacêutica. Sinto que um maior desenvolvimento e exposição destes temas nas unidades curriculares atrairia um maior número de estudantes para este sector.

Fluxograma do percurso do medicamento na Plural e pedido de encomenda



#### **4. Considerações Finais**

O estágio na Plural foi o meu primeiro contacto com qualquer atividade do sector farmacêutico desde o início do meu percurso académico. O facto de se tratar um dos sectores pouco explorados nas unidades curriculares do MICF, fez com que tivesse um maior interesse em entender e explorar esta área, razão pela qual decidi realizar este estágio.

Tendo começado este estágio sem grande noção do funcionamento de distribuição grossista, sinto que saí concretizado e enriquecido com esta experiência, não apenas a nível profissional como a nível pessoal. Saio com uma noção e compreensão do percurso do medicamento muito mais nítida e com das funções do farmacêutico a nível deste setor.

A realização deste estágio e das tarefas nele envolvidas, antes do estágio em farmácia comunitária, revelou-se vantajoso, permitindo-me adquirir várias aptidões e noções necessárias ao bom funcionamento de qualquer empresa ou farmácia, como por exemplo a regra do FIFO, verificação de validades e a importância de uma boa gestão.

## **5. Bibliografia**

- (1) PLURAL Serviços Multipharma [acedido a 10 de junho de 2018] Disponível na Internet: <http://www.plural.pt/Quemsomos/Miss%C3%A3o/tabid/353/Default.aspx>
- (2) DIÁRIO DA REPÚBLICA – MINISTÉRIO DA SAÚDE – Decreto-Lei n.º 176/2006 de 30 de Agosto (2006) [Acedido a 10 de junho de 2018] Disponível na Internet: [https://dre.pt/web/guest/pesquisa/-/search/540387/details/normal?p\\_p\\_auth=Rmj7uCwE](https://dre.pt/web/guest/pesquisa/-/search/540387/details/normal?p_p_auth=Rmj7uCwE)
- (3) ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos. Lisboa: Ordem dos Farmacêuticos, 1998.

## Parte 2- Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

*“Não existem empresas. Não existem farmácias. Existem pessoas que fazem essas empresas e farmácias.”*

**Capitolina Pinho**

## **I. Abreviaturas e Siglas**

BPF – Boas Práticas Farmacêuticas

CEDIME – Centro de Documentação e Informação de Medicamentos da ANF

DT – Diretor(a) Técnico(a)

FC – Farmácia Comunitária

FF – Farmácia Figueiredo

HC – Hidratos de Carbono

IAC – *Immunization Action Coalition*

IMC – Índice de Massa Corporal

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

PIM – Preparação Individualizada de Medicamentos

PNV – Plano Nacional de Vacinação

SPD – Sistema Personalizado de Dispensação

SPMS – Serviços Partilhados do Ministério da Saúde

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

UNESCO – *United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization*

## 2. Introdução

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) integra no seu último ano do plano de estudos a unidade curricular Estágio Curricular, sendo que a área de Farmácia Comunitária (FC) é a única área obrigatória à realização desta unidade curricular, local predileto para consolidar e adquirir novos conhecimentos e colocar em prática todos os conhecimentos adquiridos ao longo do curso. Isto demonstra toda a importância desta área para a formação e função farmacêutica.

Segundo as Boas Práticas Farmacêuticas (BPF) para FC, “O principal objetivo da farmácia comunitária é a cedência de medicamentos em condições que possam minimizar os riscos do uso dos medicamentos e que permitam a avaliação dos resultados clínicos dos medicamentos de modo a que possa ser reduzida a elevada morbi-mortalidade associada aos medicamentos”, sendo o farmacêutico o profissional de excelência para tal. (1) É na FC que na maioria das vezes ocorre o primeiro contacto do utente com um profissional de saúde em situações de questões relacionadas com a saúde. (2)

O farmacêutico como especialista do medicamento e agente da saúde pública tem o dever geral de “executar todas as tarefas que ao medicamento concernem, todas as que respeitam às análises clínicas ou análises de outra natureza de idêntico modo suscetíveis de contribuir para a salvaguarda da saúde pública e todas as ações de educação dirigidas à comunidade no âmbito da promoção da saúde” (3).

Este relatório consiste numa análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*) do meu estágio realizado na Farmácia Figueiredo (FF) e teve início a 5 de março e término a 17 de julho, compreendendo um total de 798,5 horas, sendo orientado pela Dr.<sup>a</sup> Capitolina Pinho.

Na FF tive o meu primeiro contacto com o mundo que é a FC, auxiliado e sob a “asa” de uma equipa de excelência, atenta e disposta a formar qualquer estudante interessado na sua área de trabalho.

### 3. Análise SWOT

**Tabela 2.** Análise SWOT referente ao estágio em Farmácia Comunitária

Pontos Fortes	Pontos Fracos
<ul style="list-style-type: none"><li>• Localização e os seus utentes;</li><li>• <i>Back Office</i>;</li><li>• Equipa técnica;</li><li>• Flexibilidade de horário;</li><li>• Aprendizagem contínua.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Primeiro contacto com farmácia comunitária;</li><li>• Tempo reduzido de atendimento;</li><li>• Conhecimento limitado a nível de Dermocosmética.</li></ul>
Oportunidades	Ameaças
<ul style="list-style-type: none"><li>• Fitoterapia e homeopatia;</li><li>• Dieta Easyslim;</li><li>• Preparação semanal de medicamentos;</li><li>• Metodologia <i>Kaizen</i>;</li><li>• Desenvolvimento de <i>soft skills</i>.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Localização da farmácia;</li><li>• Medicamentos esgotados e rateados.</li></ul>

#### 3.1. Pontos Fortes

##### 3.1.1. Localização e os seus utentes

A FF encontra-se desde 1928 na rua da Sofia, estando esta classificada como Património Mundial da Humanidade pela UNESCO em 2013. Tratando-se de uma zona com alta densidade de comércio e próxima de pontos turísticos torna esta localização estratégica para uma farmácia. A sua localização permitiu-me o contacto com uma elevada variedade de utentes, desde os mais jovens aos mais idosos, turistas aos utentes habituais.

Apesar de estar exposta a uma heterogeneidade de clientes, a FF possui uma grande quantidade de utentes fidelizados que recorrem regularmente desta para aviamento da sua medicação. Isto permite uma melhor familiarização e relação para com o utente e compreensão da sua medicação habitual, melhorando a qualidade de atendimento.

A FF está dividida em 5 pisos (Anexo I), cada um deles de dimensões reduzidas. No piso -1 temos o *Back Office*, o piso 0 é o piso de atendimento, o piso 1 possui lineares de exposição e o local de medição de parâmetros bioquímicos e fisiológicos, o piso 2 um WC e

dois gabinetes de atendimento ao público onde regularmente ocorrem as consultas de podologia e nutrição e por fim no piso 3 encontra-se o laboratório e o gabinete da DT.

A medição de parâmetros bioquímicos e fisiológicos, nomeadamente a tensão arterial, glicémia e valores de colesterol total e triglicéridos, realizada na farmácia permite por si um maior contacto com o utente, levando a uma melhor relação de confiança para com o profissional de saúde e, conseqüentemente, a sua fidelização.

A FF é aderente ao programa VALORMED e ao Programa de Troca de Seringas. O primeiro trata-se de “uma sociedade sem fins lucrativos que tem a responsabilidade da gestão dos resíduos de embalagens vazias e medicamentos fora de uso”, reduzindo assim o impacto destes resíduos no ambiente, impedindo a acumulação de medicamentos nas casas dos utentes e conseqüentemente a automedicação com estes. (4) O segundo foi iniciado pelos Serviços Partilhados do Ministério da Saúde (SPMS) e permite a troca de pelo menos um par de seringas usadas por um *kit* que contem: 2 seringas, 2 toalhetes, 2 ampolas de água bidestilada, 2 carteiras com ácido cítrico, 2 filtros, 2 recipientes e 1 preservativo. As seringas usadas são recolhidas diretamente para um contentor adequado que é recolhido mensalmente pela empresa Ambimed. (5)

### **3.1.2. Back Office**

O estágio na FF foi o meu primeiro contacto com os vários elementos de Farmácia Comunitária, entre eles o *Back Office* onde passei os primeiros meses do meu estágio. Aqui ocorrem as atividades relacionadas com a receção e verificação de encomendas, armazenamento e arrumação, gestão de *stocks*, devoluções e a preparação de extemporâneos.

O tempo passado em *Back Office* foi ocupado a aprender todos os processos de receção de encomendas por parte dos três armazenistas que fornecem a FF; reposição dos medicamentos nas gavetas correspondentes; arrumação dos excedentes nos armários e verificação de validades no início de cada mês.

As encomendas feitas aos armazenistas são feitas de duas maneiras: feitas a partir do *software* Sifarma2000® aquando do atendimento por necessidade ou então as “encomendas diárias”, estas sendo verificadas pela Diretora Técnica (DT) ou farmacêutico adjunto antes de ser enviada para os armazenistas. As duas principais horas de entrega de encomendas por parte dos armazenistas são logo de manhã entre as 8:30h e as 9h e de tarde após o almoço entre as 3h e as 17:30h, sendo que as principais preocupações de *Back Office* nesses momentos são a receção e arrumação das encomendas devido ao espaço limitado de *Back Office* e a

separação dos medicamentos referentes a dívidas e reservas aos utentes que são realizadas em momentos de falta de *stock*.

A passagem pelo *Back Office* aquando do início do estágio e antes do atendimento ao balcão trás diversas vantagens:

- Permite aos estagiários familiarizarem-se com os principais medicamentos e laboratórios com que a respetiva farmácia trabalha;
- Permite aos estagiários familiarizarem-se com os locais de arrumação dos medicamentos, conseqüentemente facilitando a tarefa de atendimento ao balcão;
- Permite um maior contacto e familiarização com o programa Sifarma2000® num ambiente mais controlado.

Mas acima de tudo, permite aos estagiários perceberem a importância do correto funcionamento do *Back Office* para o bom funcionamento da farmácia em geral. Por exemplo, medicamentos mal arrumados podem levar a erros de *stock* ou atendimentos demorados, afetando por sua vez a qualidade destes.

### **3.1.3. Equipa técnica**

A equipa técnica da FF é composta pela DT, um farmacêutico adjunto, um farmacêutico e dois técnicos de farmácia. A farmácia conta também ainda com um nutricionista e de uma podologista.

Quatro estudantes do MICF realizaram estágio final na FF no ano letivo de 2017/2018, sendo que eu fui dos últimos dois a começar mais tarde. Este desfasamento entre inícios e terminos de estágio, considerando também os diferentes horários de cada um, favoreceu o desenvolvimento de cada um de nós, sendo que à medida que cada um iniciava o estágio, os restantes podiam dedicar-se mais ao atendimento ao balcão.

Com o meu estágio prévio na Plural, sinto que qualquer empresa ou farmácia é tão boa quanto a equipa que a constitui, facto que se verificou na FF. Uma das principais preocupações dos membros desta equipa foi sempre garantir o bom desenvolvimento das nossas capacidades e competências técnicas ao longo do estágio.

### **3.1.4. Flexibilidade de horário**

Quando iniciei o estágio na FF encontrava-me a frequentar aulas de condução, portanto foi do meu interesse pedir autorização da DT para adaptar o meu horário para que pudesse continuar a frequentar as aulas sem interferir com o meu estágio. As últimas semanas de estágio coincidiram com a época normal e de recurso de exames, ao qual tive de me ausentar

para realizar dois exames. Situação à qual a direção técnica da FF foi extremamente compreensiva.

### **3.1.5. Aprendizagem contínua**

A constante aprendizagem e desenvolvimento de capacidades é algo fulcral para os profissionais de saúde, sendo um dos deveres do farmacêutico mencionados no Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos: “o farmacêutico deve manter atualizadas as suas capacidades técnicas e científicas para melhorar e aperfeiçoar constantemente a sua atividade, por forma que possa desempenhar conscientemente as suas obrigações profissionais perante a sociedade”. (3)

Ao longo do meu estágio na FF tive a oportunidade de assistir a várias formações, todas elas promovidas por indústrias ou laboratórios farmacêuticos, que contribuíram para o desenvolvimento dos meus conhecimentos e capacidades.

Enumero de seguida as áreas e entidades responsáveis pelas formações a que assisti:

- Contraceção e Pele promovida pela Gideon Ritcher®
- Olho Seco e Alergia Ocular promovida pela Bausch+Lomb®
- Veterinária promovida pela Bayer®
- Dietética e Suplementação promovida pela Advancis®

Sendo que esta última foi a mais relevante para o meu estágio na FF, desenvolvida no ponto 3.3.2.

A necessidade de recorrer a informação adicional relativamente a um medicamento ou procedimento é uma mais-valia estimulada pela equipa técnica da FF, de forma a garantir a nossa aprendizagem e melhores aconselhamentos. Em situações necessárias a equipa técnica estimulou a nossa pesquisa em várias fontes, como por exemplo Farmacopeias, Prontuário Terapêutico, Resumo das Características do Medicamento ou ainda o Centro de Documentação e Informação de Medicamentos da ANF (CEDIME).

Os conhecimentos a nível de farmácia comunitária são desenvolvidos e aperfeiçoados ao longo do tempo, algo que se verificou com a equipa técnica da FF, que, tendo já mais anos de experiência, tinham também mais conhecimentos em mais áreas (confirmar no ponto 3.3.1.).

Aposto a aprendizagem contínua como um ponto forte para a FF não só pelo número e variedade de formações que tive a oportunidade de assistir, mas também pelos conhecimentos adquiridos.

## **3.2. Pontos Fracos**

### **3.2.1. Primeiro contacto com farmácia comunitária**

Sendo que a realização de um estágio em FC é apenas obrigatório no segundo último ano de MICEF, este período acaba por parecer insuficiente para poder desenvolver autonomia em termos de atendimento e aconselhamento ao balcão, especialmente no início.

O meu primeiro contacto com o atendimento farmacêutico foi na FF, nunca tendo antes realizado um estágio em Farmácia Comunitária. Aponto isto como um ponto fraco meu pois a minha pouca experiência e conhecimento limitado do programa Sifarma2000® afetou o meu progresso em termos de atendimento.

### **3.2.2. Tempo reduzido de atendimento**

Como já mencionado anteriormente, eu iniciei o meu estágio na FF como um dos últimos estagiários e um dos com mais horas a realizar, especificamente 796 horas. O desfasamento entre datas de início de estágio e horas a realizar fez com que fosse o último dos estagiários a terminar o estágio. Isto afetou a minha prestação a nível de atendimento ao público visto ter realizado mais tarefas de *Back Office* por mais tempo.

Apesar do pouco tempo presente em Atendimento sinto ter conseguido evoluir e adquirir/melhorar aptidões e capacidades necessárias para um correto atendimento.

### **3.2.3. Conhecimento limitado a nível de Dermocosmética**

Ao longo deste estágio pude aperceber-me que os conhecimentos adquiridos na área de Dermocosmética ao longo do MICEF não foram suficientes. Esta trata-se de uma área cuja procura é crescente e que requer um aconselhamento seguro. Por esta razão aponto o meu conhecimento limitado de linhas de Dermocosmética e, conseqüentemente, no seu aconselhamento, como um ponto fraco meu.

No entanto, destaco como ponto forte o conhecimento na área por parte da equipa técnica e as atividades de dinamização por parte de marcas cosméticas que ocorreram na duração do meu estágio.

### **3.3. Oportunidades**

#### **3.3.1. Fitoterapia e homeopatia**

A FF permitiu-me o contacto com medicamentos homeopáticos e fitoterapia, áreas em que não tinha grande experiência antes do estágio. Estas alternativas terapêuticas demonstram menos efeitos secundários, apelando por vezes mais aos utentes idosos, crianças ou grávidas, complementando as terapêuticas convencionais. O contacto com estes medicamentos permitiu-me observar e contactar com o grupo de utentes que se dirigiam especificamente à FF para aquisição destes produtos. Destaco a procura do Flexidor<sup>®</sup>, que contendo extratos de flor de *Arnica montana* e de raiz de *Symphytum officinale*, é bastante usado para situações de dores musculares, sendo aconselhado em vez de Diclofenac Gel. O facto de se tratar de uma pomada em vez de gel implica uma evaporação mais lenta, permitindo ser usado em massagem, que por sua vez ajuda no alívio de dores musculares.

Destaco o vasto conhecimento por parte da equipa técnica da FF nestas áreas e a sua disposição para com os estagiários na explicação e ensino relativo a estes produtos.

#### **3.3.2. Dieta *Easyslim***

Durante a realização do meu estágio ocorreu a introdução na FF da dieta *Easyslim*, a qual tive o prazer de realizar. Esta dieta foca-se na redução alimentar e aquisição de hábitos alimentares saudáveis auxiliada por um nutricionista onde são retirados vários grupos alimentares para serem depois progressivamente reintroduzidos e está dividida em 3 fases: emagrecimento acelerado, emagrecimento continuado e manutenção.

Os utentes são convidados a realizarem um rastreio gratuito onde um nutricionista avalia diversos parâmetros nutricionais: peso, altura, IMC, massa magra, massa magra corporal, gordura corporal, perímetro abdominal e a gordura visceral. Caso se demonstrem interessados, os utentes começam então a primeira das 3 fases da dieta. Nesta fase há uma perda rápida de peso corporal devido ao corte repentino de hidratos de carbono (HC) e aumento de consumo de proteínas de forma a induzir uso de gorduras como fonte de energia pelo corpo. Nesta fase da dieta a nutricionista aconselha o uso de 3 suplementos diferentes: um drenante para auxiliar a reduzir a retenção de líquidos que se verifica quando há perdas de peso, um multivitamínico para compensar os défices vitamínicos devidos às restrições alimentares impostas e finalmente um protetor hepático com principal constituinte a silimarina extraída do *Cardo Mariano*, um composto conhecido por ser hepatoprotetor. Os utentes são seguidos pelo nutricionista através de consultas semanais onde se é verificado o peso corporal,

perímetro abdominal e percentagem de gordura e massa magra corporal. A introdução de HC é progressiva e seletiva, começando-se pelos alimentos com menor teor de HC. Isto permite verificar os progressos na perda de peso após a reintrodução.

A segunda fase é marcada por uma perda de peso mais lenta. Aqui o suplemento hepatoprotetor pode ser substituído por outro consoante as necessidades do utente.

Atingindo-se o peso pretendido e valores normais dos parâmetros medidos considera-se o início da terceira e última fase da dieta. Nesta terá já ocorrido a reintrodução de todos os grupos alimentares e tenta-se garantir uma boa reeducação alimentar do utente, permitindo manter o peso alcançado.

A participação na formação relativamente à dieta em si e os suplementos nela envolvidos e a oportunidade de a experimentar por mim próprio, permitiu-me um maior envolvimento com o tema e uma maior familiarização com as gamas de produtos nela envolvidos, sendo benéfico para os meus atendimentos e familiarização com os utentes da FF.

### **3.3.3. Preparação semanal de medicação**

Segundo as BPF, o farmacêutico tem como principal responsabilidade “a saúde e o bem-estar do doente e do cidadão em geral, promovendo o direito a um tratamento com qualidade, eficácia e segurança” e deve “assegurar a máxima qualidade dos serviços que presta”. (1) Segundo a portaria n.º 97/2018, a partir de Maio do presente ano, do conjunto de serviços que podem ser prestados pelas farmácias, consta o serviço de preparação individualizada de medicamentos (PIM). (6)

Assim, a equipa técnica da FF, através dos Sistemas Personalizados de Dispensão (SPD) presta mais um serviço aos seus utentes. Este serviço é adequado para utentes polimedicados, com posologias complexas ou com limitações a nível de autonomia em relação à toma da medicação, desta forma facilitando e garantindo a correta toma desta.

Os SPD permitem o reacondicionamento da medicação hermeticamente, estando devidamente identificada a data de preparação, a semana destinada à toma e o utente a que se destina. Nos SPD os medicamentos encontram-se separados em compartimentos individualizados e devidamente selados, pelos 7 dias da semana nos 4 principais momentos de toma: pequeno-almoço, almoço, jantar e deitar (confirmar no Anexo 2). Caso os momentos de toma dos utentes fossem distintos destes 4, seriam devidamente retificados e identificados manualmente no próprio SPD.

A PIM na FF segue a norma n.º 00-NGE-00-001-00 – R8. (7)

### **3.3.4. Metodologia Kaizen**

Na FF encontra-se implementada a metodologia *Kaizen* que tem como objetivo a melhoria contínua.

Tendo tido inicialmente contacto com esta metodologia através de palestras da Academia Glintt<sup>®</sup>, a responsável pela implementação desta metodologia na FF, incitou em mim o interesse pelas possibilidades que esta metodologia pode trazer a qualquer empresa, farmácia ou até mesmo a nível pessoal. Esta metodologia trata-se por identificação dos problemas, desenvolvendo soluções até sua resolução, funcionando apenas com o envolvimento de toda a equipa. Os procedimentos de correta arrumação do *Back Office*, verificação das encomendas, a sua arrumação em locais devidamente identificados, a comunicação entre equipa, a gestão e organização da informação são algumas das aplicações da metodologia *Kaizen*

Na FF, pude auxiliar e participar nesta metodologia a nível de gestão e organização da informação por elaboração e retificação das tabelas individuais para PIM.

### **3.3.5. Desenvolvimento de soft skills**

Durante o meu estágio tive a oportunidade de demonstrar e desenvolver várias *soft skills*: comunicação, gestão e organização de informação, criatividade, trabalho de equipa e conhecimentos de informática.

No 5º ano de MICF frequentei a unidade curricular opcional de Tecnologia da Produção de Vacinas e Adjuvantes. A pedido da DT elaborei com a minha colega de estágio Ana Nascimento, um questionário base a ser realizado ao utente antes da administração de uma vacina não presente no Plano Nacional de Vacinação (PNV) como a vacina da gripe (anexo 3), um dos atos permitidos realizar em farmácia segundo a portaria 1429/2007. (8) Este foi elaborado com base no questionário disponibilizado pela Immunization Action Coalition (IAC) para vacinação em adultos. (9)

Tive na FF a oportunidade de progressivamente elaborar e melhorar as tabelas necessárias aquando da preparação dos SPD e também de elaborar uma tabela resumo de medicamentos homeopáticos, contribuindo para a metodologia *Kaizen*.

Tive também a oportunidade de explorar as minhas capacidades a nível de conhecimentos de informática e fotografia para campanhas de *marketing* para determinadas ocasiões:

- Produção de tabelas para preenchimento relativamente às animações de Caudalie<sup>®</sup>; René Furterer<sup>®</sup> e Frezyderm<sup>®</sup>;

- Elaboração de ficheiro de *Google Sheets Online* para inserção e quantificação de quantidades de medicamentos necessários para SPD de cada utente a ser realizado por semana.

- Fotografia para o Sorteio Dia da Mãe (Anexo 4);
- Publicidade desconto Eucerin® (Anexo 5);
- Publicidade promoção Colilen® (Anexo 6);
- Publicidade oferta Caudalie® (Anexo 7);
- Imagens para linear dedicado a produtos íntimos (Anexo 8).

### **3.4. Ameaças**

#### **3.4.1. Localização da farmácia**

Pela mesma razão que tornam a sua localização um ponto forte para a FF, também pode ser considerado uma ameaça devido á concorrência existente, nomeadamente o elevado número de farmácias e locais de venda de MNSRM na baixa de Coimbra.

A existência de um elevado número de farmácias concorrentes na sua proximidade requer uma diferenciação e destaque da FF, de forma a atrair um maior número de utentes. A sua equipa técnica, os serviços prestados, campanhas publicitárias realizadas, distintas marcas exploradas são algumas das características que permitem a FF distinguir-se das restantes.

O aumento de locais de venda de MNSRM desde o lançamento do decreto-Lei 134/2005 de 16 de agosto revelou-se uma nova concorrência para as farmácias e farmacêuticos, fornecendo aos utentes mais um local de aquisição de medicamentos sob regime de preços livre desde que o local cumpra os requisitos legais e regulamentares. Estes locais não necessitam obrigatoriamente de farmacêuticos, podendo possuir apenas técnicos de farmácia. (10)(11)(12)

#### **3.4.2. Medicamentos esgotados ou rateados**

Uma das principais preocupações em qualquer farmácia é conseguir responder às necessidades dos seus utentes. Infelizmente isto torna-se difícil quando existem medicamentos esgotados, quando há rotura no laboratório, ou quando estes se encontram rateados, quando as quantidades nos armazenistas são muito escassas. Estas situações podem até afetar o próprio atendimento devido à mentalidade dos consumidores atuais.

## 4. Casos Práticos

### 4.1. Tratamento de ferida aberta

Utente de sexo feminino entre os 60-65 anos dirige-se à farmácia com o intuito de comprar uma bisnaga de Fucicort®. Ao questionarmos relativamente à necessidade do medicamento a utente explica que tem uma ferida aberta na perna que se encontra ligeiramente inchada e avermelhada e que tinha sido aconselhada por uma amiga para usar o Fucicort® mas que entretanto já tinha acabado uma bisnaga que lhe foi emprestada por aplicação repetida ao longo dos dias.

Como o Fucicort® tem betametasona na sua composição, um corticosteroide, o seu uso continuado e a longo prazo deverá ser evitado, algo que foi devidamente informado à utente. (13)

Aconselhou-se o a limpeza da ferida com antisséptico e o uso de Fucidine® Pomada 2%. O seu princípio activo é o ácido fusídico, um antibacteriano indicado para tratamento de infeções localizadas na pele, devendo ser aplicado duas a três vezes por dia. (14)

### 4.2. Obstipação

Utente do sexo feminino entre os 25-30 anos dirige-se à farmácia para comprar Dulcolax® comprimidos devido à obstipação que sentia. Questionei primeiro relativamente à duração da sintomatologia e se sofria de alguma doença intestinal ao qual a utente afirmou apenas que a sintomatologia tinha já a duração de 5 dias mas que “era algo normal” para si e que usava Dulcolax® regularmente.

Comecei então por desaconselhar o uso de Dulcolax®, pois, tratando-se de um laxante de contacto, atua por irritação da mucosa intestinal após hidrólise no intestino grosso e o seu uso continuado pode levar a desidratação por perda intestinal de fluidos. (15) Aconselhei primeiro uma maior ingestão de líquidos e de alimentos ricos em fibra. Aconselhei então o uso de Melilax® adulto, que estimula a defecação, amolecimento das fezes e proteção da mucosa, diminuindo assim a sensação de desconforto e sem irritar a mucosa. Isto deve-se à sua composição em mel num complexo de monossacarídeos, polissacarídeos e melanoidinas, o PROMELAXIN®. (16) Aconselhei também o uso de Sollievo® comprimidos à base de plantas, que tem na sua composição principalmente folhas de *Cassia angustifolia* (Sene), raiz de *Taraxacum officinale* (dente-de-leão), suco de *Aloe ferox* (aloe) e *Foeniculum vulgare* (funcho), plantas conhecidas por ajudarem na regulação do trânsito intestinal sem causar habituação e com menos riscos de interações. (17) Aconselhei a utente a tomar 2 comprimidos à noite até a situação melhorar.

## 5. Conclusões

Não tendo realizado nenhum estágio em FC previamente ao que realizei na FF, posso dizer que me encontro mais que satisfeito com o meu tempo passado sob a sua alçada. Aqui pude conciliar os conhecimentos adquiridos nas 57 unidades curriculares realizadas ao longo de 5 anos de curso. A importância da FC, as atividades nela praticada, e os profissionais de saúde são uma mais-valia para a sociedade e a saúde pública.

Senti que a todos os momentos, com a ajuda e conhecimentos passados pela equipa técnica, tive uma aprendizagem e desenvolvimento constante, tanto a nível técnico como a nível pessoal.

O contacto com *Back Office* permitiu-me adquirir capacidades e noções de organização e gestão de farmácia e a sua necessidade para o funcionamento da mesma.

O contacto com o utente e oportunidade de demonstrar e desenvolver as capacidades adquiridas ao longo do curso não teriam sido possíveis sem a realização deste estágio. Conseguir-me adaptar às necessidades dos utentes, esclarecer as suas questões e aperceber-me que estes ficavam satisfeitos com o atendimento foram pequenas vitórias que ajudavam a ultrapassar os obstáculos e ameaças que apareciam e que me permitiram ver com os meus próprios olhos a importância do farmacêutico para o público. Com isto sinto que saio deste estágio mais confiante em mim mesmo e nas minhas próprias capacidades.

Termino com um agradecimento a Dr.<sup>a</sup> Capitolina Pinho e a toda a sua equipa técnica pela sua amabilidade, paciência e confiança depositada em mim e todos os meus colegas que realizaram o seu estágio na FF. Os conhecimentos aí adquiridos são os que nos guiarão no nosso futuro profissional.

## 6. Bibliografia

- (1) Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária (BPF) 3ª Edição 2009
- (2) ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - A Farmácia Comunitária. [Acedido a 29 de julho de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/>
- (3) ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos. Lisboa: Ordem dos Farmacêuticos, 1998.
- (4) VALORMED. [Acedido a 28 de agosto de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.valormed.pt/>
- (5) SPMS - Programa De Troca De Seringas Nas Farmácias (PTS), Julho de 2017 [Acedido a 28 de agosto de 2018] Disponível na Internet: [http://spms.min-saude.pt/wp-content/uploads/2017/12/2017.07.19\\_PTS\\_Fluxograma2017.pdf](http://spms.min-saude.pt/wp-content/uploads/2017/12/2017.07.19_PTS_Fluxograma2017.pdf)
- (6) DIÁRIO DA REPÚBLICA - MINISTÉRIO DA SAÚDE – Portaria n.º 97/2018, de 9 de abril (2018) [Acedido a 28 de agosto de 2018] Disponível na Internet: <https://dre.pt/home/-/dre/115006162/details/maximized>
- (7) ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - Norma Geral n.º 00-NGE-00-001-00 – R8, de 30 de maio (2018) [Acedido a 28 de agosto de 2018] Disponível na Internet: [https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/norma\\_geral\\_de\\_preparacao\\_individualizada\\_de\\_medicao\\_9446071805b0edc3c64d3f.pdf](https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/norma_geral_de_preparacao_individualizada_de_medicao_9446071805b0edc3c64d3f.pdf)
- (8) DIÁRIO DA REPÚBLICA - MINISTÉRIO DA SAÚDE – Portaria n.º 1429/2007, de 2 de novembro (2007) [Acedido a 20 de julho de 2018] Disponível na Internet: <https://dre.pt/pesquisa/-/search/629418/details/maximized>
- (9) IMMUNIZATION ACTION COALITION - Screening Checklist for Contraindications to Vaccines for Adults, Abril de 2018 [Acedido a 20 de julho de 2018] Disponível na Internet: <http://www.immunize.org/catg.d/p4065.pdf>
- (10) DIÁRIO DA REPÚBLICA - MINISTÉRIO DA SAÚDE - Decreto-Lei n.º 238/2007 de 19 de Junho (2007) [Acedido a 20 de julho de 2018] Disponível na Internet: <https://dre.pt/pesquisa//search/639284/details/maximized?drelid=126205>
- (11) DIÁRIO DA REPÚBLICA - MINISTÉRIO DA SAÚDE - Decreto-Lei n.º 134/2005 de 16 de Agosto (2005) [Acedido a 20 de julho de 2018] Disponível na Internet: <https://dre.pt/pesquisa/-/search/243692/details/maximized>
- (12) DIÁRIO DA REPÚBLICA - MINISTÉRIO DA SAÚDE - Portaria n.º 827/2005, de 14 de Setembro (2005) [Acedido a 20 de julho de 2018] Disponível na Internet: <https://dre.pt/web/guest/pesquisa//search/143331/details/maximized>

- (13) INFARMED - Resumo das Características do Medicamento - Fucicort creme (2017) [Acedido a 02 de agosto de 2018]. Disponível na Internet: [http://app7.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=3702&tipo\\_doc=rcm](http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=3702&tipo_doc=rcm)
- (14) INFARMED - Resumo das Características do Medicamento - Fucidine pomada (2015) [Acedido a 02 de agosto de 2018]. Disponível na Internet: [http://app7.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=3704&tipo\\_doc=rcm](http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=3704&tipo_doc=rcm)
- (15) INFARMED - Resumo das Características do Medicamento - Dulcolax 5 mg comprimido revestido (2014) [Acedido a 01 de agosto de 2018]. Disponível na Internet: [http://app7.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=2863&tipo\\_doc=rcm](http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=2863&tipo_doc=rcm)
- (16) ABOCA - Melilax. [Consultado em 01 de agosto de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.aboca.com/pt/os-nossos-produtos/melilax>
- (17) ABOCA - Sollievo comprimidos. [Consultado em 01 de agosto de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.aboca.com/pt/os-nossos-produtos/sollievo-comprimidos>

## **7. Anexos**

### **7.1. Anexo I – Disposição da Farmácia Figueiredo**

**Piso 3 Gabinete da DT e laboratório de preparação de medicação semanal**

**Piso 2 WC e gabinetes de Podologia e Nutrição**

**Piso 1 Lineares de exposição e  
Medição de parâmetros biológicos e fisiológicos**

**Piso 0 Atendimento**

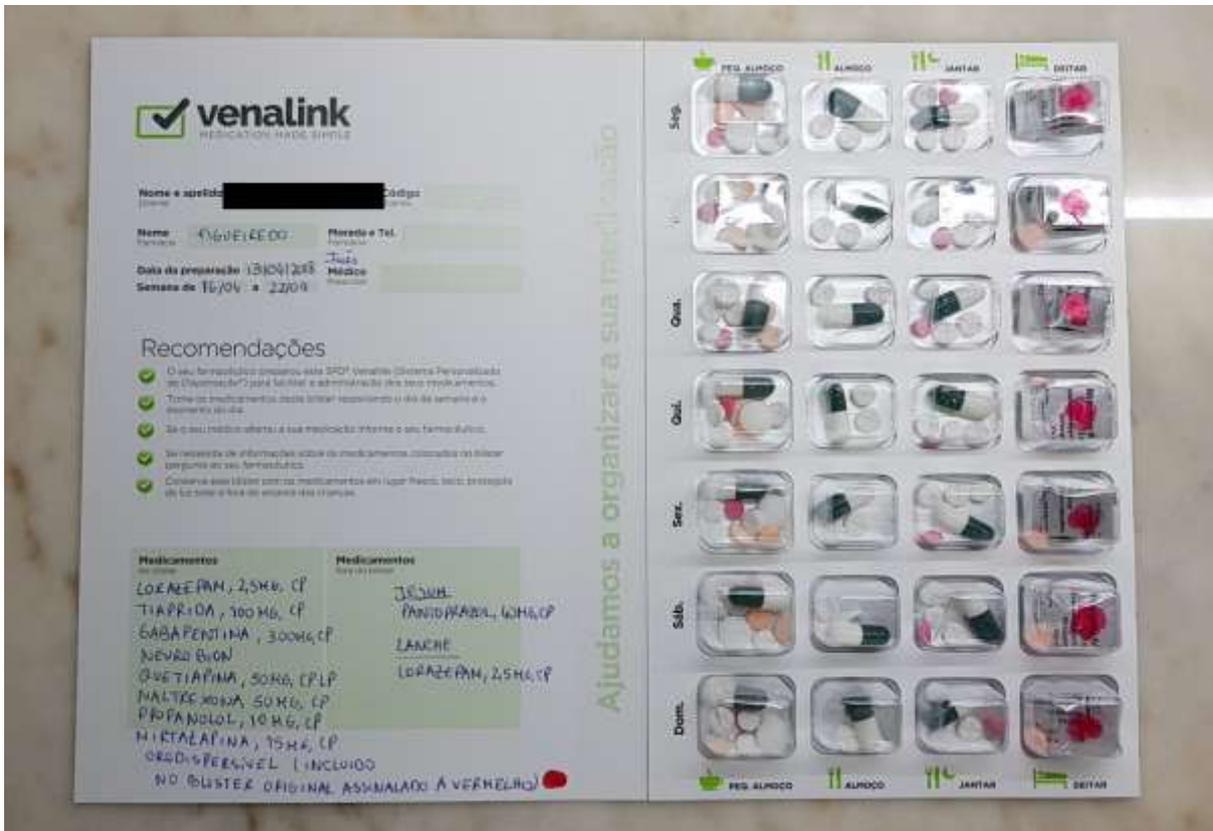
**Piso -I *Back office***

## 7.2. Anexo 2 – SPD

### 7.2.1. SPD por preencher



### 7.2.2. SPD Preenchido



### 7.3. Anexo 3 – Questionário de vacinas

## Administração da Vacina \_\_\_\_\_

Nome do utente: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_

Sexo: \_\_\_\_\_

CONTRA-INDICAÇÕES/PRECAUÇÕES	SIM	NÃO	OUTRA INFORMAÇÃO RELEVANTE
Esteve doente recentemente?			
Tem alguma doença (como: diabetes, asma, anemia, cardiovascular, pulmonar, renal, cancro, leucemia, VIH/SIDA)? Qual?			
Tem alergias (a medicamentos ou a alimentos)? Se sim, a quê?			
Tem alergia à proteína do ovo?			
Teve alguma vez uma reação grave após receber uma vacina?			
Recebeu recentemente uma transfusão sanguínea ou produtos derivados do sangue?			
Está grávida ou planeia engravidar no proximamente?			
Está a amamentar?			
Tem algum registo de Síndrome de Guillian-Barré?			
Recebeu alguma vacina no último mês? Qual?			

Que medicamentos/tratamentos tomou nos últimos 3 meses?

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**7 razões da vacinação segundo a Organização Mundial de Saúde:** “as vacinas salvam vidas”, “a vacinação é um direito básico de todos os cidadãos”, “os surtos de doenças evitáveis pela vacinação são ainda uma séria ameaça para todos”, “as doenças podem ser controladas e eliminadas”, a vacinação é custo-efetiva”, “as crianças dependem do sistema de saúde dos respetivos países para terem acesso à vacinação gratuita e segura”, “todas as crianças devem ser vacinadas”.

## Informação aos profissionais de saúde sobre contra-indicações da vacinação

Para ajudar os profissionais de saúde da FF a tomarem uma decisão sobre a administração ou não das vacinas que não se encontram no Plano Nacional de Vacinação ou que cuidados devem destacar para os utentes, segue abaixo a análise que deve ser feita do questionário acima apresentado, tendo por base o artigo *Screening Checklist for Contraindications to Vaccines for Adults patients*.

«Esteve doente recentemente?» Ter em atenção para todas as vacinas que se a pessoa estiver muito doente ou a tomar antibióticos, deve aguardar-se que o utente melhore para ser possível a administração da vacina.

«Tem alguma doença (como: diabetes, asma, anemia, cardiovascular, pulmonar, renal, cancro, leucemia, VIH/SIDA)? Qual?» Para a vacina contra o sarampo/papeira/rubéola deve ter-se em consideração a presença de trombocitopenia ou púrpura trombocitopénica. Para a vacina intranasal viva atenuada contra a *Influenza* não se conhecem bem as contra-indicações, pelo que deve haver um cuidado acrescido. Todas as vacinas vivas (vacina intranasal viva atenuada contra a *Influenza*, vacina contra o sarampo/papeira/rubéola, vacina contra a varicela e a vacina viva contra o *Herpes-Zoster*) estão contra-indicadas em imunodeprimidos. Em adultos com linfócitos T auxiliares diminuídos é recomendada a vacina contra o sarampo/papeira/rubéola, bem como a vacina contra a varicela.

«Tem alergias (a medicamentos ou a alimentos)? Se sim, a quê?» Verificar qual a composição das vacinas e se contêm a substância a que o utente é alérgico. Se o utente teve uma reação anafilática derivada do látex, as vacinas que contenham látex ou estejam em contacto com este estão contra-indicadas, exceto se a reação for exclusivamente local.

«Tem alergia à proteína do ovo?» Ter em atenção para todas as vacinas que possam ser produzidas em ovo, como a vacina atenuada intranasal contra a *Influenza*, o facto de existirem pessoas que podem ser alérgicas à proteína do ovo. Se teve uma alergia grave à proteína do ovo ou que envolveu hospitalização, a vacina deve ser administrada numa unidade de saúde.

«Teve alguma vez uma reação grave após receber uma vacina?» Em caso afirmativo, deve haver uma precaução acrescida para qualquer vacina.

«Recebeu recentemente uma transfusão sanguínea ou produtos derivados do sangue?» Se a transfusão sanguínea tiver ocorrido no último ano convém verificar se existe ou não contraindicação, em especial ter em consideração as vacinas vivas como (vacina intranasal viva atenuada contra a *Influenza*, vacina contra o sarampo/papeira/rubéola, vacina contra a varicela e a vacina viva contra o *Herpes-Zoster*).

«Está grávida ou planeia engravidar no proximamente?)/«Está a amamentar?» Ter em atenção que as vacinas vivas (vacina contra o Papiloma Vírus Humano, vacina intranasal viva atenuada contra a *Influenza*, vacina contra o sarampo/papeira/rubéola, vacina contra a varicela e a vacina viva contra o *Herpes-Zoster*) não devem ser administradas uma mês antes do início da gravidez ou durante a mesma, uma vez que pode haver a transmissão do vírus para o feto. Já as vacinas inativadas contra o vírus *Influenza* e a vacina contra o tétano/difteria/tosse convulsa são recomendadas durante a gravidez.

«Tem algum registo de Síndrome de Guillian-Barré?» Quando o utente teve um episódio de Síndrome de Guillian-Barré 6 semanas após a toma da vacina do toxóide do tétano, na toma subsequente deve ser administrada a vacina contra o tétano/difteria/tosse convulsa em vez da primeira; no caso da vacina intranasal viva atenuada contra a *Influenza* ou da vacina inativada contra o vírus *Influenza*, se esta síndrome ocorrer até 6 semanas após a administração, devemos optar pela vacina inativada contra o vírus *Influenza*, caso se verifique que o benefício é superior ao risco.

«Recebeu alguma vacina no último mês? Qual?» (vacina intranasal viva atenuada contra a *Influenza*, vacina contra o sarampo/papeira/rubéola, vacina contra a varicela, vacina contra a febre amarela, a vacina viva contra o *Herpes-Zoster*)» Caso alguma destas vacinas tenha sido tomada há menos de 4 meses, deve esperar-se. As vacinas inativadas podem ser tomadas em simultâneo ou, então, deve aguardar-se pelo menos 1 mês entre tomas.

«Que medicamentos/tratamentos tomou nos últimos 3 meses?» Todas as vacinas vivas (vacina intranasal viva atenuada contra a *Influenza*, vacina contra o sarampo/papeira/rubéola, vacina contra a varicela e a vacina viva contra o *Herpes-Zoster*) devem ser tomadas após 3 meses da última toma de qualquer medicamento imunossupressor, não obstante verificar-se caso a caso a sua eventual contra-indicação.

#### 7.4. Anexo 4 – Fotografia Dia da Mãe



## 7.5. Anexo 5 – Publicidade Eucerin®



The advertisement features a collection of Eucerin skincare products, including Hyaluron-Filler, Elastivital, and Hyaluron-Filler Serum, arranged on a white surface. A dark blue banner in the center contains the following text:

**DESCONTO**  
**ANTI-IDADE**  
**30%** NA COMPRA DE 1 PRODUTO  
**60%** NA COMPRA DO 2º PRODUTO

The Eucerin logo is visible in the top right corner, and the Eucerin logo is also present in the bottom right corner of the advertisement.

## 7.6. Anexo 6 – Publicidade Colilen®

**Colite?**  
Um intestino irritável  
é um intestino em dificuldade

**Proteja-o**  
com Acetilucina

**Colilen<sup>IBS</sup>**  
Para o tratamento da síndrome  
do intestino irritável caracterizada  
por dor, inchaço abdominal  
e irregularidade intestinal

**1 = 2**



\*Na compra de uma embalagem de Colilen 96 cápsulas recebe outra de oferta.  
Campanha válida até 25 de Maio de 2018. Limitada ao Stock existente.





## 7.8. Anexo 8 – Linear produtos íntimos



## Parte 3 – Cytochrome P450 Involvement with the Brain

## Resumo

As substâncias estranhas ao organismo (xenobióticos) são eliminadas através de processos de metabolismo e excreção. A sua metabolização no fígado permite que se tornem mais hidrofílicas e aptas para excreção. O sistema citocromo P450 (CYP450) é uma superfamília de enzimas responsáveis por reações de fase I de compostos endógenos e exógenos. São holoenzimas monooxigenases, compostas por uma apoenzima e um cofator não proteico, que atuam inserindo um átomo de oxigênio nos seus substratos. Para algumas substâncias isto é suficiente para serem excretadas, enquanto outras necessitam ainda de sofrer reações de fase 2. Estas reações são realizadas por outras enzimas através da conjugação dos metabolitos com grupos funcionais, originando metabolitos inativos.

As CYP450 apresentam múltiplas isoformas, o que permite a metabolização de várias substâncias. Estas enzimas podem sofrer processos de indução, ativação e inibição, que por sua vez podem levar ao desenvolvimento de tolerâncias a fármacos, ou potenciar os seus efeitos.

Para além do fígado, estas enzimas foram também detetadas noutros locais do organismo, como a barreira hematoencefálica e o cérebro, embora em concentrações menores.

Estudos recentes permitiram estabelecer uma relação entre estas enzimas e ao desenvolvimento e/ou tratamento de doenças neurodegenerativas.

Esta monografia explora informação relativamente à presença, distribuição e regulação destas enzimas no cérebro e o seu envolvimento em doenças neurodegenerativas como a doença de Parkinson e a doença de Alzheimer.

**Palavras-chave:** CYP450, cérebro, doença de Alzheimer, doença de Parkinson, fármacos, inibição, indução.

## **Abstract**

Foreign substances in our organism (xenobiotics) are eliminated through metabolic and excretory processes. Metabolism in the liver enables substances to become more hydrophilic before excretion. Cytochrome P450 (CYP450) enzymes are a superfamily responsible for phase I reactions in the metabolism of endogenous and exogenous compounds. These enzymes are holoenzymes, composed by an apoenzyme and a non-proteic cofactor, and are monooxygenases, meaning that they act mainly by inserting one atom of oxygen into their substrates. This is sufficient for some substrates to undergo excretion, but others may have to go through phase 2 reactions. Those reactions are carried out by other enzymes through the conjugation of metabolites with functional groups, in order to create inactive metabolites. CYP450s present multiple isoforms, allowing them to metabolize different substances. They can undergo induction, activation or inhibition through several mechanisms, which may lead to drug tolerance or enhanced pharmacological effects.

In addition to the liver, these enzymes have also been found in other sites, such as the blood-brain barrier and the brain, although at much lower concentrations.

Recent studies have established a relation between these enzymes and the development and/or treatment of neurodegenerative disorders.

This monograph explores data relevant to CYP450 regulation, presence and distribution in the brain and also its involvement in neurodegenerative disorders such as Parkinson's disease and Alzheimer's disease.

**Keywords:** Alzheimer's disease, brain, CYP450, drugs, induction, inhibition, Parkinson's disease.

## Abbreviations

ABC – ATP-binding cassette

AD – Alzheimer's Disease

ADH – Alcohol dehydrogenase

AhR – Aromatic hydrocarbon receptors

AhRE – Ah-receptor regulatory elements

A $\beta$  – Amyloid  $\beta$

CAR – Constitutively androstane receptor

cDNA – Complementary deoxynucleic acid

CYP450 – Cytochrome P450

HIV – Human Immunodeficiency Virus

ICV – Intracerebroventricular

MPP<sup>+</sup> – 1-methyl-4-phenylpyridinium

MPTP – 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine

mRNA – Messenger ribonucleic acid

NADPH – Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NAPQI – N-acetyl-p-aminobenzoquinone

PBREM<sub>s</sub> – Phenobarbital-responsive enhancer modules

PD – Parkinson's Disease

POR – NADPH-CYP450 reductase

PXR – Pregnane X receptor

RTF – Receptor transcription factors

RXR – Retinoid X receptor

## I. Introduction

Humans contact with a variety of substances foreign to the human body (xenobiotics) every day and all are eliminated by excretory processes. The duration and method of excretion depend on the chemical composition of the substance, which can be nutrients, necessary for the proper organism functioning; or foreign substances, such as chemicals and drugs, with therapeutic or recreational use.<sup>1</sup>

Xenobiotics may accumulate in tissues, leading to harmful consequences to the organism, hence the need for eliminatory processes and associated systems, namely the hepatic system, the urinary system and the lungs (highly volatile substances).<sup>2</sup> Hydrophilic substances can be easily excreted by these systems but most drugs have a tendency to be hydrophobic, which enables them to cross the lipid bilayers of cell membranes, promotes plasma protein binding and hampers their excretion by the kidneys, thereby leading to a longer half-life. These substances need to undergo metabolism (catabolism, the breakdown of substances and anabolism, the build-up) by specific enzymes that turn them into more polar and hydrophilic compounds (metabolites).<sup>2,3</sup> Metabolic enzymes can mediate one of two reaction categories: phase I and phase 2 reactions. Phase I reactions are degradative reactions and usually introduce or expose a functional group in the molecule, whereas phase 2 reactions are synthesizing reactions that conjugate the metabolite formed after phase I reactions with certain components (e.g.: sulfate, acetyl, glucuronic acid). Amongst phase I reaction enzymes is the cytochrome P450 (CYP450) superfamily, a monooxygenase system, and one of the most important and vast family of holoenzymes, responsible for the oxidation of a large quantity of substances.<sup>1-3</sup>

This monograph explores CYP450 regulation, data relating to their distribution in human brain and their influence in neurodegenerative disorders, specifically Parkinson's disease (PD) and Alzheimer's disease (AD).

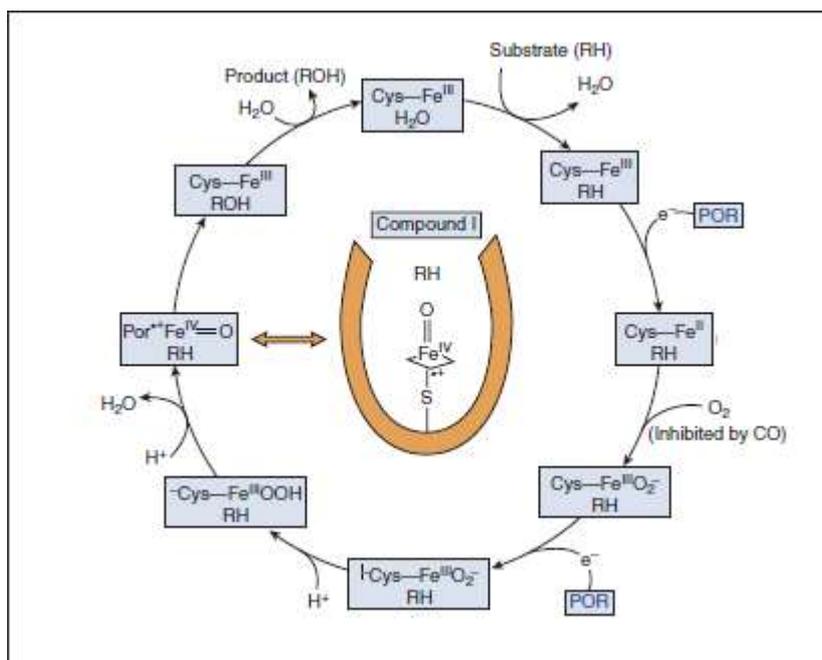
### I.1. Functions, locations and families

The liver is the main organ responsible for metabolic reactions, harboring the majority of metabolizing enzymes in the body. Nevertheless, other organs besides the liver, such as the lungs, kidneys, gastrointestinal tract (i.e.: intestinal flora) and brain, exhibit metabolizing activity.<sup>1-3</sup> Metabolizing enzymes, including CYP450 enzymes, are mostly, but not only, found rooted into the endoplasmic reticulum (ER) membranes of tissue cells that display metabolizing activity.<sup>2</sup> In the liver, CYP450s are mostly located near the central vein, presumably due to evolutionary reasons, in order to ensure a better defense against hepatotoxic compounds.<sup>4</sup>

CYP450 enzymes are a superfamily of heme proteins with multiple isoforms, mainly responsible for the oxidation, but also for the N-dealkylation, O-dealkylation, deamination (amongst others) of substrates<sup>5</sup>, with the help of O<sub>2</sub> that binds to iron in the heme group, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) and NADPH-CYP450 reductase (POR) that provides H<sup>+</sup> (Equation 1).



Following substrate binding to CYP450, reduction of the heme iron from the ferric state (FeIII) to the ferrous state (FeII) occurs after a single electron from POR is introduced. It is at this stage that CYP450 can bind and reduce its substrates. Substrate binding changes ferric iron's spin state from low to high, making reduction easier to occur. Afterwards, an O<sub>2</sub> molecule binds to the heme iron in the ferrous state, giving an electron to CYP450 and forming the ferric-bound superoxide anion (Cys-FeIII O<sub>2</sub><sup>2-</sup>). This stage is followed by the addition of a second electron from POR, forming the supernucleophilic ferriperoxo intermediate (-Cys-FeII O<sub>2</sub><sup>2-</sup>). In the next step, the addition of a proton (H<sup>+</sup>) converts the supernucleophilic ferriperoxo intermediate into the ferrihydroperoxy intermediate (-Cys-FeIII OOH). This is succeeded by the addition of a second H<sup>+</sup>, with the release of water, forming compound I, an iron IV-oxo porphyrin radical cation species, responsible for most of CYP-catalyzed reactions. In the final steps of the catalytic cycle, O<sub>2</sub> from compound I is transferred to the substrate (RH) to form a metabolite (ROH), which is then released. Lastly, the CYP450 enzyme returns to its resting ferric state (FeIII) (Figure 1).<sup>5</sup>



**Figure 1.** CYP450 catalytic cycle. Adapted from Casarett and Doull's toxicology: The basic science of poisons.<sup>5</sup>

CYP450 enzymes are holoenzymes composed by an apoenzyme, the protein portion of the enzyme, and a cofactor, which in this family is the prosthetic heme group.<sup>4</sup> They also play an important role in the synthesis of several endogenous substances, the only difference being that these CYP450s are substrate-specific, unlike the CYP450s that metabolize xenobiotic compounds.<sup>1</sup> The latter can metabolize several different substances due to the existence of multiple isoforms that possess large substrate binding areas, capable of attaching to the substrate at more than one position. This allows flexibility and variability for these enzymes to metabolize multiple substances. However, despite being capable of this, these enzymes are also slower, which translates into a lower turnover number, only compensated by the elevated number of enzymes expressed by the organism.<sup>1</sup>

The designation CYP450 comes from the distinctive spectral properties that these enzymes exhibit. At 450nm, the reduced form of CYP450 enzymes (FeII-CO complex) creates peaks of absorption creating a pink compound.<sup>2,3</sup>

**Table I.** CYP450 nomenclature, using CYP3A4 as example. The gene encoding the respective CYP450 is written in italic, i.e. *CYP3A4*.

<b>CYP</b>	<b>3</b>	<b>A</b>	<b>4</b>
Cytochrome	Family	Sub-Family	Gene

The enzymes of the CYP450 superfamily are distinguished by their amino acid sequences, the similarities between which classify them in families and subfamilies (40% and 70%, respectively)<sup>6</sup> and influence their inhibitors, inducers and the reactions they partake in. There are a total of 57 subfamilies and 18 families for CYP450s in humans<sup>7</sup>, but only the families 1, 2 and 3 are involved in drug metabolism, with the following being the most well-known to metabolize xenobiotics: CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4 and CYP3A5. Subfamilies 1A, 1B, 2A, 2B and 2E are mostly involved in the activation of protoxins, whilst subfamilies 2C, 2D and 3A mediate drug metabolism, with CYP3A4 being the most expressed in the liver and implied in the metabolism of almost half of all clinically used drugs. The remaining CYP450 families are involved in the synthesis and metabolism of endogenous compounds, such as cholesterol, bile acids, fatty acids and steroid hormones.<sup>1,3</sup>

## **1.2. CYP450 modulation**

### **1.2.1. Induction and activation**

According to LIN<sup>8</sup>, induction is seen as an “adaptive response that protects the cells from toxic xenobiotics by increasing the detoxification activity”. Some substances, after repeated exposure, induce CYP450s by one of two ways: increasing the rate of synthesis, by increasing gene transcription; or decreasing the rate of degradation (e.g.: troleandomycin inducing CYP3A4 and ethanol inducing CYP2E1<sup>9</sup>). By inducing CYP450s, these substances increase not only their own metabolic rate but also the metabolism of other drugs or endogenous substances. This does not necessarily lead to beneficial consequences since some drugs, namely prodrugs, need to be metabolized to reach their active form, or, as mentioned, some metabolites may be more reactive, leading to higher toxicity.<sup>3</sup> Additionally, a loss of efficacy of multiple drugs can occur, due to the development of tolerance. This includes oral contraceptives, immunosuppressants and anti-epileptics, such as carbamazepine. Initially, lower doses are used since liver enzymes are not yet induced, and then the dose is slowly increased throughout the following weeks, when induction begins to settle.<sup>2</sup>

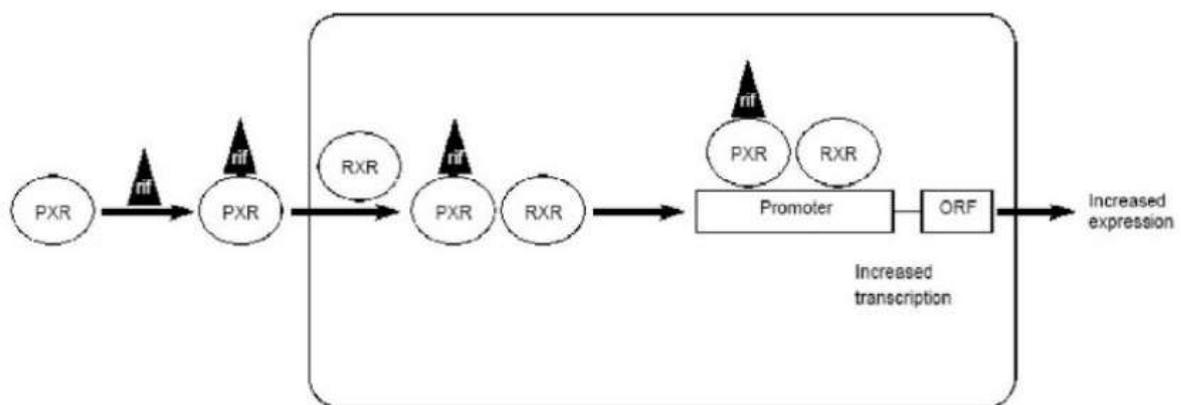
Induction by increased gene transcription starts with the activation of receptor transcription factors (RTF) by substrate interaction. Amongst the RTF responsible for CYP450

inductions are the aromatic hydrocarbon receptors (AhR), the constitutively androstane receptor (CAR) and the pregnane X receptor (PXR).<sup>1,10,11</sup>

The induction mechanism of CYP1A1 is one of the most well studied and understood: the inducer binds to the AhR in the cytosol and is transported into the nucleus; the conjugation between the receptor and its nuclear receptor creates a heterodimer that interacts with xenobiotic-responsive enhancers in the CYP1A genes known as Ah-receptor regulatory elements (AhRE); this leads to a higher transcription of CYP1A genes and consequently, increased protein production.<sup>8,11,12</sup> For instance, omeprazol, a proton- pump inhibitor, is also able to induce CYP1A enzymes in humans, not by directly binding to the Ah receptor but by interacting with its ligand-binding domain after being decomposed by gastric acid into a sulfonamide metabolite.<sup>13</sup>

Antiepileptic drugs, such as carbamazepine and phenobarbital, have been shown to greatly induce several CYP450 isoforms from different subfamilies (1A, 2A, 2B, 3A mostly). CYP450 induction by phenobarbital starts with the activation of promoter regions, the phenobarbital-responsive enhancer modules (PBREMs) by the heterodimer formed by the CAR and the nuclear retinoid X receptor (RXR) after phenobarbital interaction. It is then translocated from the cytosol to the nucleus to initiate transcription.<sup>8,11,12</sup>

Soon after the start of its use, the antibiotic rifampicin was identified as a CYP450 inducer, mainly of the CYP3A subfamily. The half-lives of certain drugs such as oral contraceptives, anticoagulants and immunosuppressants were shown to have decreased after rifampicin use.<sup>14</sup> This induction mechanism starts with rifampicin binding to PXR, a receptor known for having multiple ligand binding pockets, and activating it. The complex is translocated into the nucleus where it undergoes dimerization to form a heterodimer with RXR. This heterodimer is then able to bind to CYP3A genes in their promoter region to activate its transcription (figure 2).<sup>12,15</sup>



**Figure 2.** CYP3A induction by rifampicin. Adapted from Chen *et al*;<sup>15</sup>

Chronic ethanol consumption has shown to induce CYP2E1 by increased messenger ribonucleic acid (mRNA) expression levels and by reducing its degradation rate via protein stabilization, a post-transcriptional induction mechanism.<sup>12,16,17</sup> This second mechanism works by protecting the enzyme from being degraded after substrate conjugation via the ubiquitin proteasome pathway, mediated by cAMP-dependent phosphorylation.<sup>18,19</sup> Acetaminophen, an antipyretic and analgesic drug, is extremely hepatotoxic at doses higher than 4000mg. At these doses, 90% of it is conjugated into substances that are easily eliminated through the kidney. The remaining 10% are metabolized by CYP450 (including CYP2E1) into one of its reactive metabolites, N-acetyl-p-aminobenzoquinone (NAPQI). After glutathione (GSH) depletion, NAPQI accumulates and is conjugated with other groups and macromolecules, ultimately increasing its toxicity.<sup>12,20</sup> CYP2E1 activity increased after its induction by chronic ethanol consumption, leads to a faster decrease in GSH levels and consequently, higher levels of toxic substrates.<sup>21</sup>

Activation of enzymes, unlike induction, happens much faster without the use of multiple doses, while effectively having the same end result. Activators act by enhancing the limiting steps in the catalytic cycle: substrate binding, electron transfers, oxygen activation, conjugation of activated oxygen with substrate and metabolite release<sup>22</sup>, thereby successfully enhancing the rate of the enzyme catalysis. Since activation is rare *in vivo*, its mechanisms still aren't completely understood.<sup>22</sup> Hypothetical mechanisms involve destabilizing the enzyme-product complex, enhancing POR's activity, allosteric effects upon substrate conjugation, shifts in the redox potential of the heme iron or even electron supplying from other CYP450s. Homotropic cooperativity, where the substrate leads to the activating process of its own metabolism, and heterotropic cooperativity, where a substance referred as the effector leads to the activation and increased metabolism of other substrates, have also been proposed as possible mechanisms.<sup>22</sup>

### **1.2.2. Inhibition**

CYP450 inhibition can occur by three different pathways: reversible inhibition, quasi-irreversible inhibition and irreversible inhibition, all of which work by modifying the enzyme or impairing CYP450 activity in any of its moments, namely substrate conjugation to the heme group, conjugation of oxygen to the enzyme and substrate oxidation. CYP450 inhibition is a high risk for polymedicated patients, such as elderly people or human immunodeficiency virus (HIV) patients, since many protease inhibitors are known to be CYP450 inhibitors. For

example, the concomitant use of clopidogrel, an antiplatelet drug, and omeprazole, a proton-pump inhibitor is unadvised, because omeprazole is known to inhibit CYP2C19, which is the main metabolizer of clopidogrel into its active compound. Thus, the therapeutic effect of clopidogrel is reduced.<sup>2</sup>

The most common of the three inhibition methods, reversible inhibition, results from competition with the substrate for the CYP450 active site, involving the first step of the catalytic cycle. Reversible CYP450 inhibitors are known for containing nitrogen, such as the imidazole group of antifungals (e.g.: ketoconazole), quinolones and pyridyl ring. They can bind to the heme group or the lipophilic portion of CYP450s or even both simultaneously, increasing their potency (e.g.: cimetidine and ketoconazole). The stronger the bond and the inhibitor's lipophilicity, the more potent is the inhibition. Protease inhibitors used in HIV treatment are known for having nitrogen groups, making them good CYP450 inhibitors.<sup>23</sup>

Substances that bind to the prosthetic heme group in its ferric state (FeIII) cause a shift in its spin state from high to low, making its reduction more difficult.<sup>8,23</sup> CYP11B1, also known as 11 $\beta$ -hydroxylase, plays an important role in cortisol synthesis, and metyrapone is a potent reversible inhibitor by binding to the prosthetic heme group and interacting with the lipophilic portion of the enzyme, making it great for Cushing's syndrome treatment.<sup>23</sup>

Quasi-irreversible inhibition happens when substrates generate inhibitory metabolites called metabolic intermediates: carbenes for methyldioxy compounds (paroxetine), nitroso groups for amines (troleandomycin) and nitrene for 1,1-disubstituted hydrazines (isoniazid). These intermediates can bind to prosthetic heme groups with high affinity creating complexes that turn CYP450s functionally inactive. They are quasi-irreversible because this process can be undone but only *in vitro*, by incubation with lipophilic compounds or irradiation.<sup>24-26</sup>

Suicide substrates are drugs that need to be activated before irreversibly inactivating the metabolizing enzyme. These substrates can act by altering the prosthetic heme group, the protein portion of the enzyme or both. Drugs that alter the prosthetic heme group are usually metabolized into radical substrates that alkylate or acylate it, effectively inactivating it. Terminal alkene- (allylisopropylacetamide) and alkyne- (ethinylestradiol) containing drugs fall in this category. Chloramphenicol is a potent CYP450 inhibitor and its mechanism involves oxidation of the dichloroacetamide group in the drug that alkylates a lysine at the enzyme surface, inhibiting electron transfer from reductase to heme group. Drugs with sulfur groups, such as tienilic acid, an uricosuric acting loop diuretic drug, metabolized by CYP2C9, produce reactive sulfur metabolites after metabolization that bind to the enzyme, irreversibly inhibiting it.<sup>8,23</sup>

This drug was withdrawn from the market due to case reports of patients developing liver damage.<sup>27</sup>

## **2. Brain metabolism**

### **2.1. CYP450 brain distribution**

To reach the brain, substances need to cross the blood-brain barrier (BBB) that acts as a mediator between the brain and any kind of substances that may circulate in peripheral blood. This barrier is composed by microvessel endothelial cells (EC) held together by tight junctions. Covering the EC are pericytes and astrocytic end-feet providing an extra layer that separates brain tissue from circulating blood. In addition to these cells, microglia and neurons are also part of the BBB.<sup>28,29</sup>

This barrier is permeable to water and gaseous molecules, such as O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> or He. Substances have to be lipophilic and of small size (less than 400Da) to be able to passively diffuse through it, otherwise they can only pass with the aid of solute carriers. At the BBB, ATP-binding cassette (ABC) transporters are present in the luminal side of the EC cells and responsible for recognizing and transporting substances back to blood circulation.<sup>30,31</sup>

CYP450s are also present in ECs of the BBB, specifically the isoforms CYP2J2, CYP2E1, CYP2B6, CYP2D6, CYP2R1, and CYP1B1, CYP2U1 showing higher levels of expression.<sup>32–34</sup> In astrocytic end-feet that sheath the microvessel EC, only CYP2J2, 1B1 and 2U1 were expressed. The remaining CYP450s were identified in ECs of the microvessels.<sup>35,36</sup> It is believed that the synergistic activity of the ABC transporters and CYP450s present in the human BBB helps protecting and regulating it.<sup>30</sup>

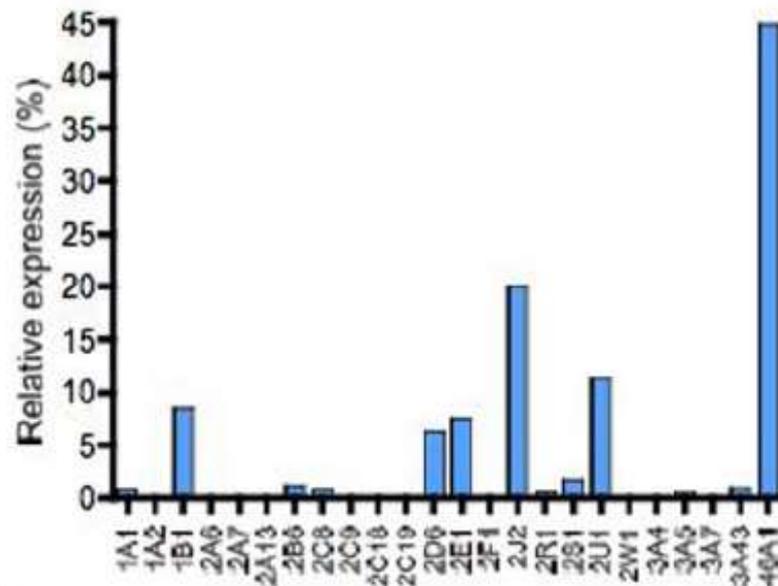
As previously mentioned, CYP450s are mainly present in the liver, particularly in the ER of cells, but are also expressed in other organs such as the lungs or, most importantly, the brain. Here, CYP450s can additionally be found in the inner membrane of mitochondria<sup>34,37,38</sup>, nucleus<sup>39</sup> but mostly in cytosol.<sup>4,40</sup> CYP450 brain levels have not been exactly quantified, with some sources claiming their concentration reached only as much as 1% of liver concentration<sup>37,41</sup> and others claiming it varies between each region and location, with some CYP450 reaching equal or even higher concentrations than those in liver.<sup>42</sup>

The main difficulty in characterizing and quantifying brain CYP450s resides in the methodology used in different studies. Results with protein or mRNA can lead to confusing findings, because mRNA degrades faster than the proteins during sampling; proteins are affected by post-transcriptional regulation while mRNA isn't; and antibodies used for CYP450 can have different specificities. Furthermore, CYP450 expression levels can be affected by

other variables, including pathological conditions such as neurodegenerative diseases, further explored in section 2.2.2.

In the brain, CYP450s are not homogeneously distributed, since higher expression levels can be found in the brain stem and cerebellum and the lowest levels in the striatum and hippocampus. In these areas, CYP450s are shown to be expressed in several subcellular compartments.<sup>33</sup>

In 2009, DUTHEIL<sup>34</sup> used RNA from total human brain and several brain regions: cerebellum; dura matter; cerebral cortex; frontal, parietal, temporal and occipital lobes; the paracentral and postcentral gyrus; insula, corpus callosum, hippocampus, caudate nucleus, nucleus accumbens, putamen, pons and medulla oblongata, as well as, primers for all the known genes encoding the human CYP450 from families 1,2,3 and 46A1. The purpose was to determine the different gene expression levels in different brain areas in percentage levels. According to the results, the main CYP450 isoforms expressed in the human brain (90%) are: CYP1B1, 2D6, 2E1, 2J2, 2U1 and 46A1, the last one being the only brain exclusive CYP450.<sup>34</sup> CYP450s 1A1, 2B6, 2C8, 2R1, 2S1 2W1, 3A5 and 3A43 were also present but at much lower levels (Figure 3).<sup>32,34</sup>



**Figure 3.** CYP450s expression in the whole brain as a percentage from total CYP450 expression. Adapted from Dutheil *et al.*,<sup>35</sup>

CYP450s 1A1, 1B1 and 2D6 are expressed in neurons and neuroglia of almost every brain region while 2B6, 2E1 and 3A CYP450s appear to be mostly expressed in neurons.<sup>34,43</sup> CYP1B1 is expressed at extremely high levels in the dura mater, followed by the medulla oblongata and

putamen. CYP2D6 higher levels were found in the putamen, caudate nucleus of basal ganglia and cortex, specifically the frontal lobe. CYP2E1 higher levels were in the cortex, while CYP2U1 expressed higher levels in the substantia nigra of the basal ganglia, cortex and medulla oblongata. CYP2J2 was the second to express higher levels of all of the detected CYP450s, with the highest levels in the substantia nigra of the basal ganglia, putamen and cerebellum, topped only by CYP46A1 which was expressed in high quantities in all brain areas.<sup>34</sup>

Their distribution proposes the hypothesis that they can have different roles, depending on their location. The isoforms expressed at the BBB may have a more regulatory role, filtering and blocking xenobiotic penetration, protecting the bordering neurons while isoforms present in neurons have a stronger role in endogenous metabolism. Those present in neuroglia help regulate blood-flow and signaling enzymes during inflammation through arachidonic acid (AA) metabolism.<sup>4</sup>

## **2.2. Brain metabolism**

Over the past few years, with the research and discoveries made concerning neurodegenerative disorders and their respective treatments, a hypothesis arose that endogenous compounds and CYP450 regulation could be related to their development, being a cause or even a potential therapeutic target.<sup>44-46</sup> Researching these disorders is of utmost importance, considering they could become one of the leading causes of death by the middle of the century.<sup>47</sup>

### **2.2.1. CYP450 effects in the brain**

In the brain, CYP450s appear mainly as cytosolic enzymes due to low availability of the prosthetic heme group in it. Their proper function as fully active holoenzymes is dependent on it since the apocytochrome needs to be conjugated to the heme group before being inserted in membranes where they will be active. In mice brain, heme content reaches only 30% comparatively to the liver, where it is highly available.<sup>4</sup>

In 2009, a study by MIKSYS demonstrated that brain CYP2B in rats were active *in vivo* and were selectively inhibited by suicide inhibitors (C8-xanthate, which belong to a family of salts used for producing cellophane from cellulose and 8-methoxypsoralen, used to treat skin conditions), its reactive intermediates covalently binding to the apoprotein.<sup>48</sup>

In 2010, KHOKHAR<sup>49</sup> demonstrated that nicotine induced CYP2B in rat brain and not in the liver after a 7-day treatment with the substance.

In 2011, a study by KHOKHAR and TYNDALE<sup>50</sup> was the first to demonstrate that CYP450 metabolism in the brain and its regulation could affect the pharmacological effect of drugs. The CYP450 tested in this study were CYP2B, which are expressed both in rat and human brains.<sup>51</sup>

In the 2011 study by KHOKHAR and TYNDALE<sup>50</sup>, Wistar rats were exposed to C8-xanthate, 8-methoxypsoralen or just vehicle solution through intracerebroventricular (ICV) injection after a 7-day nicotine treatment to confirm brain CYP2B inhibition and induction. The ICV injection is used to reduce errors due to metabolites from liver CYP450. The rats receiving only nicotine treatment expressed higher levels of CYP2B than control groups, while the rats receiving only the inhibitors expressed lower levels than control groups. Groups receiving both nicotine and the inhibitors expressed lower levels than those receiving only nicotine. A control group was intraperitoneally injected with increasing doses of propofol, a general anesthetic metabolized by CYP2B in the brain, to deduce a sleep-time dose-response curve. The groups exposed to the inducer, inhibitor or both were also administered with propofol to determine their effects in propofol induced sleep-time. Nicotine-exposed groups showed reduced sleep-times while those exposed to the inhibitors showed increased sleep-times and higher brain propofol levels. Rats exposed only to nicotine treatment and propofol had its sleep-time reduced after being injected with C8-xanthate, effectively reversing the effects of nicotine on propofol sleep-times. In all study groups, plasma propofol levels were unaltered, meaning that sleep levels were related to brain levels and not systemic levels.<sup>50</sup>

A study done by MIKSYS *et al.*<sup>52</sup> explored the effects of nicotine and ethanol in CYP2B6 expression and distribution in brain. CYP2B6 metabolizes nicotine into its main metabolite, cotinine<sup>53</sup>, but it also metabolizes drugs of abuse into toxic metabolites<sup>54,55</sup>, so patients with higher levels of this enzyme may be more susceptible to their neurotoxic effect. Human brain tissues were extracted from dead subjects that fall in five categories: control (non-smokers and non-alcoholics), smoker, alcoholic, smoker and alcoholic. CYP2B6 was identified through western blot, revealing that smoking alcoholics expressed higher levels than only alcoholics, while smokers expressed higher levels than non-smokers and alcoholics expressed higher levels than non alcoholics.<sup>52</sup>

In 2013, a study by FERGUSON *et al.*<sup>56</sup> exposed African Green Monkeys (AGMs) to ethanol, nicotine and both simultaneously to determine CYP2B6 and CYP2E1 levels compared to a control group. Due to similar anatomy and expression of CYP450 in brain, AGMs pose as a good human model to predict its induction<sup>56-58</sup>, unlike rats due to the differences in their anatomy and brain CYP450 expression patterns.<sup>56</sup> In this study, the group exposed only to ethanol expressed higher levels of CYP2B6 and the group exposed to nicotine expressed

higher levels of CYP2E1, when compared to the control groups. The group exposed to both substances expressed higher levels of both CYP450s. In the three groups only the protein levels were increased whereas the mRNA levels were unaffected, posing the hypothesis that the induction mechanism of ethanol and nicotine for CYP2B6 and CYP2E1, respectively, does not occur through increased transcription or mRNA stability.<sup>56</sup> This study also revealed that the sequences between human complementary deoxyribonucleic acid (cDNA) and AGM PCR amplified fragments for CYP2B6 and CYP2E1 expressed high homology, 93.8% and 94.7% respectively.

CYP2D6 in humans is one of the examples where it is induced in the brain but not in the liver by nicotine.<sup>57,59</sup> Studies show this induction does not alter mRNA levels, suggesting a post-transcriptional mechanism such as protein stabilization.<sup>60</sup> With ethanol, it seems it can happen by both mechanisms. In 2014, a study by MILLER *et al*,<sup>61</sup> explored this hypothesis in AGM, which is, as mentioned before, a good study model. AGMs were treated with nicotine and ethanol, being separated in 4 groups: a control group that did not receive any of the substances, one group treated with nicotine-only, one group treated with ethanol-only and a final group treated with both. This study concluded that both nicotine and alcohol are able to increase CYP2D protein in the brain, alone or in conjunction, without altering its mRNA levels.<sup>61</sup>

CYP2D6 is the enzyme responsible for codeine activation into morphine, mainly in the liver but also in the brain through O-demethylation<sup>62</sup>, to reach its analgesic effect. A study done in 2015 in rat brain by MCMILLAN and TYNDALE<sup>62</sup> showed that CYP2D6 inhibition with propranolol through ICV injection, decreased only brain morphine levels and its analgesic effect. In the same study, it was also demonstrated that nicotine induced brain CYP2D, leading to enhanced codeine metabolism in the brain, consequently increasing its analgesic effect. This induction of CYP2D6 was shown to alter the rate of opioid tolerance development with codeine in a study by MCMILLAN and TYNDALE in 2017.<sup>63</sup>

Both ethanol and nicotine induce the expression of CYP2E1 in the brain.<sup>64</sup> This finding is important since this CYP450 is ethanol's main metabolizer in the brain, unlike other tissues where alcohol dehydrogenase (ADH) is the main alcohol metabolizer.<sup>16</sup> The induction in the liver occurs with increased mRNA and protein activity levels, implying an increased expression of the enzyme and its stabilization. A study done with AGM showed no increase in brain mRNA levels.<sup>56</sup> Acute nicotine exposure in rats was shown to induce CYP2E1 only in the cerebellum, while a longer exposure causes induction in the cerebellum, hippocampus and cortex.<sup>65</sup>

A recent study by MAST *et. al*<sup>66</sup>. analyzed rat CYP46A1 activation by endogenous compounds *in vitro*. The authors concluded that L-glutamate, L-aspartate,  $\gamma$ -aminobutyric acid and acetylcholine were able to activate CYP46A, particularly L-glutamate. This activation is caused by binding to the enzyme's surface in an allosteric site, without interfering with the active site, unlike CYP46A1 inhibitors (e.g.: tranlycypromine, clotrimazole, fluvoxamine)<sup>67,68</sup> that compete with cholesterol for the active site. Efavirenz, a reverse transcriptase inhibitor used for HIV treatment, also activates CYP46A1.<sup>44,69</sup> The study mentioned that efavirenz had a synergistic effect with L-glutamate in activating CYP46A1, since these two compounds do not compete for the same allosteric site in the enzyme's surface.<sup>66</sup>

## **2.2.2. CYP450 involvement in neurodegenerative disorders**

### **2.2.2.1. Parkinson's disease (PD)**

PD is one of the most prevalent neurodegenerative diseases. It reached over 6 million patients in 2015, with estimates reaching nearly 13 million by the year 2040.<sup>70</sup> PD is characterized by motor dysfunction caused by reduced dopamine levels from loss of dopaminergic neurons.<sup>71</sup> With its definitive causes being yet unknown, genetics, aging and environment are being pointed as the main suspects.<sup>71</sup>

CYP450s are thought to be related not only to its development but also in ways to treat it or even prevent it.<sup>46</sup> The discovery of L-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP), a substance capable of producing parkinsonian symptoms permanently in the human body after metabolized into its toxic compound L-methyl-4-phenylpyridinium (MPP<sup>+</sup>) by several metabolizing enzymes such as monoamine oxidase B<sup>72</sup> and the CYP450 superfamily, and its structure similarities with pesticides (e.g.: paraquat) have made it possible to associate PD development to the exposure to these kind of substances.<sup>41,46,73</sup>

CYP2E1 is one of the brain CYP450s responsible for the metabolism of MPTP into its toxic and inactive metabolites, with the full effect being overall more harmful to the subject with the development of PD.<sup>74</sup> In a study conducted in 2017, ethanol, one of the main CYP2E1 inducers, promoted the loss of pre- and post-synaptic proteins in a type of human dopaminergic cells, specifically SH-SY5Y cells, and led to an overexpression of the enzyme.<sup>75</sup> CYP2E1 inhibitors, such as diallyl trisulfide, obtained from allicin hydrolysis, could help with reducing the metabolization of MPTP into MPP<sup>+</sup> in the brain but complete inhibition of this enzyme has yet to be achieved.<sup>41,46</sup>

On the other hand, CYP2D6 is responsible for metabolizing endogenous trace amines, such as tyramine into dopamine, as mentioned earlier, but also inactivating several pesticides, including MPTP and its most active compound, MPP<sup>+</sup>, through N-demethylation.<sup>35,76,77</sup> Thus, CYP2D6 poor metabolizers show a higher risk of developing PD, especially after pesticide exposure<sup>78</sup>, proposing a protective effect of this CYP450 against PD development. Indeed, a study performed in 2012 by MANN *et al.*,<sup>43</sup> revealed that PD patients had lower brain levels of CYP2D6 when compared to control subjects. A study by MANN and TYNDALE<sup>79</sup> exposed SH-SY5Y neuronal cells to MPTP and MPP<sup>+</sup> after treating them with quinidine, metoprolol, propranolol and timolol, CYP2D6 selective inhibitors, and ketoconazole, a CYP3A selective inhibitors. The results of this study showed an increase in cell death after exposure to the neurotoxin, compared to cells that weren't treated with the selective inhibitors. Concomitant use of both CYP2D6 and CYP3A inhibitors indicated an additive effect in the neurotoxin's toxicity.<sup>79</sup> In another study, nicotine induced CYP2D6 expression in the brain, which did not happen in the liver, with smokers having higher levels of this enzyme and a lower risk of developing PD.<sup>57,80-82</sup>

#### **2.2.2.2. Alzheimer's disease (AD)**

According to the World Health Organization (WHO), dementia is “a syndrome characterized by a disturbance of multiple brain functions, including memory, thinking, orientation, comprehension, calculation, learning capacity, language, and judgement”.<sup>83</sup> It affects 46.8 million people worldwide and this number is estimated to double every 20 years.<sup>84</sup>

AD is the primary cause for the onset of dementia, affecting 44 million people in the world<sup>85,86</sup> and corresponds to 60-70% of dementia cases.<sup>83</sup> This disease was discovered by Alois Alzheimer in 1906, and is characterized by the accumulation of amyloid  $\beta$  (A $\beta$ ) peptides or amyloid plaques in cerebral vessels, as well as, tau proteins or neurofibrillary tangles in neurons. This can lead to neuron death and loss of brain tissue with progressive cognitive dysfunction.<sup>87,88</sup>

The majority of AD cases happen at 65 years or older (late onset AD), and these show that genetic risk plays a role in its development, specifically the apolipoprotein E gene. This gene is polymorphic, with its  $\epsilon 4$  allele and the number of alleles in patients being the shown to increase the risk of AD development since apolipoprotein E  $\epsilon 4$  is the least efficient of the 3 isoforms to enhance A $\beta$  degradation.<sup>78,89</sup>

High cholesterol levels are one of the risk factors for the development and progression of AD<sup>90,91</sup> by enhancing A $\beta$  synthesis.<sup>92,93</sup> The brain exclusive CYP, CYP46A1, is responsible for

initiating cholesterol metabolism into 24(S)-hydroxycholesterol and its elimination from the brain. This metabolite can easily cross the BBB, unlike cholesterol, to be eliminated by reverse cholesterol transport. Higher expression levels of this enzyme are related to improved cognition.<sup>45</sup> One theory suggests that lower levels of 24(S)-hydroxycholesterol could lead to faster progression of AD, since this metabolite has shown *in vitro* to help inhibit the formation of A $\beta$ .<sup>94</sup> Patients with AD exhibit lower levels of CYP46A1 and, consequently, 24(S)-hydroxycholesterol, mainly due to neuron death from the pathology.<sup>94</sup>

In 2015, a study used mice that overexpress amyloid precursor protein (APP), from which derives A $\beta$ , and used viral vectors carrying a short hairpin RNA to inhibit CYP46A1 activity through RNA interference. Consequently, brain cholesterol levels were shown to be increased and 24(S)-hydroxycholesterol levels were decreased, when compared to control groups. The study concluded that increased brain cholesterol levels stimulate the production of APP and consequently A $\beta$  accumulation, potentially inducing AD.<sup>95</sup>

In 2017, a study treated 5XFAD mice, an AD model with quickly accumulating A $\beta$  peptides,<sup>96</sup> with efavirenz, a CYP46A1 activator, at different ages. This substance was shown to influence CYP46A1 activity and cholesterol homeostasis even at the lowest age administered. The study revealed that mice treated with efavirenz showed reduced levels of A $\beta$ , making CYP46A1 a potential pharmacological target for AD.<sup>96</sup>

### 3. Conclusion

CYP450s are a superfamily of enzymes responsible for most of phase I reactions of several exogenous and endogenous compounds in the human body. Initially thought to only have relevance in liver metabolism, they have since been identified in other tissues. In the brain and BBB, several isoforms have been identified in a heterogeneous distribution and its influence in drug metabolism and neurodegenerative disorders is still being researched.

Some substances can induce these enzymes through interactions with RTF which lead to increased synthesis or enzyme stabilization by reducing their degradation time. Substances can also inhibit CYP450 activity by competing for the enzyme active site, or irreversibly altering the enzyme. These reactions cause loss of efficacy or enhanced pharmacological effects.

So far, CYP2B1 and CYP2U1 are the most expressed isoforms at BBB, while CYP1B1, CYP2D6, CYP2E1, CYP2J2, CYP2U1 and CYP46A1 are the most expressed in whole brain. CYP450s help regulate the entrance of xenobiotics and endogenous substances into the brain, protecting it, and also partake in endogenous compounds regulation, despite their low concentration. Studies suggest that their distribution amongst the brain regions influence the role they take.

The involvement of some members of this superfamily in brain metabolism and the mechanisms of its regulation aren't still fully understood and require further research. The complete understanding of its distribution in human brain is still under research with advances being made with each year by several teams. Research on their role in neurodegenerative disorders has originated promising results.

CYPs 2E1 and 2D6 involvement in the development of PD could help us further understand it and also identify better therapeutic targets by modulating this CYP450s expression. CYP2E1 was shown to metabolize MPTP, a substance known for causing Parkinson-like symptoms, into its active metabolite. CYP2D6 is able to inactivate MPTP and is metabolites. Its induction by nicotine can help reduce the risk of developing PD.

CYP46A1 is the only brain exclusive CYP450 and one of the two responsible for cholesterol oxidation, demonstrating its importance in cholesterol-turnover rates. Recent studies have shown AD patients exhibit lower levels of this enzyme and that its overexpression and activation through endogenous compounds or even a drug used for HIV treatment can help reduce the risk of developing AD. Its relevance in AD development could lead to a better understanding of this pathology while also proposing a new pharmacological target.

**Table 2.** Summary table of CYP450s in the Brain with known substrates, inhibitors, inducers, activators and locations.

CYP450s in Brain							
Family	Subfamily	Substrates	Inhibitors	Inducers	Activators	Location	References
CYP1A	CYP1A1	Melatonin Antidepressants Haloperidol Estradiol				Multiple regions	33,34,97,98
	CYP1A2	Melatonin Estrogen Arachidonic acid				Cortex Cerebellum Hippocampus	33,34,98
CYP1B	CYP1B1	Caffeine Theophylline Melatonin Arachidonic acid Estradiol	Flavonoids cannabinoids	Dioxins β-Naphthoflavone		Temporal lobe BBB	4,30,32-34,36,99,100
CYP2B	CYP2B6	Testosterone Antidepressants		Nicotine		Cerebellum Hippocampus Cortex	33,34,51,52,97,98
CYP2D	CYP2D6	Codeine MPTP Haloperidol Progesterone Harmine Tyramine	Propranolol Quinidine Paroxetine Metoprolol	Nicotine Ethanol		Cerebellum Cortex Hippocampus	4,30,33,34,60,63,79,98,101,102
CYP2E	CYP2E1	Acetaminophen Ethanol Neurotoxins Drugs of abuse	Dimethyl sulfoxide, Dimethylformamide, Hexane, Diallyl disulfide	Ethanol Acetone Nicotine		Cerebellum Cortex Hippocampus BBB Basal ganglia	4,32,34,41,64,75,103,104
CYP2J	CYP2J2	Arachidonic acid				Basal ganglia Putamen Cerebellum	32-34
CYP2R	CYP2R1	Arachidonic Acid Vitamin D				Putamen	34,105
CYP2U	CYP2U1	Arachidonic Acid				BBB	30,34,106,107
CYP46A	CYP46A1	Cholesterol	Thiopramide, posaconazole		Efavirenz L-Glutamate) Acetaminophen Tranylcypromine Clotrimazole Fluvoxamine	Multiple areas	34,46,66-68,96

#### 4. References

1. GONZALEZ, F. J., COUGHTRIE, M., AND TUKEY, R. H. - **Chapter 6: Drug Metabolism**. In: GOODMAN, L. S., BRUNTON, L. L., CHABNER, B., & KNOLLMANN, B. C., Goodman & Gilman's pharmacological basis of therapeutics. New York: McGraw-Hill Education/Medical, 2011. ISBN 978-0-07-176939-6. p. 124-143.
2. **Chapter 9: Drug metabolism and elimination**. In: RANG, H., RITTER, J., FLOWER, R., HENDERSON, G. AND DALE, M. - Rang and Dale's pharmacology. Edinburgh: Elsevier, Churchill Livingstone, 2016 ISBN 978-0-7020-5362-7 p. 116–124.
3. CORREIA, M. A. - **Chapter 4: Drug Biotransformation**. In: KATZUNG, B. G., MASTERS, S. B., & TREVOR, A. J. - Basic & clinical pharmacology. New York: McGraw-Hill Education/medical, 2012. ISBN 978-0-07-176401-8 p. 53–68.
4. MEYER, R. P., GEHLHAUS, M., KNOTH, R. and VOLK, B. - **Expression and function of cytochrome p450 in brain drug metabolism**. Curr. Drug Metab., 8 (2007) 297–306.
5. KLAASSEN, C. D., CASARETT, L. J., & DOULL, J. - **Casarett and Doull's toxicology: The basic science of poisons** 8th ed. New York: McGraw-Hill Education / Medical, 2013. ISBN 978-0-07-176922-8.
6. PLANT, N. - **Molecular Toxicology** 1st Ed. Garland Science, 2003. ISBN 9781859963456.
7. NELSON, D. R. - **Progress in tracing the evolutionary paths of cytochrome P450**. Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteomics, 1814 (2011) 14–18.
8. LIN, J. H. and LU, A. Y. - **Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications**. Clin Pharmacokinet, 35 (1998) 361–390.
9. ELIASSON, E., MKRTCHIAN, S. and INGELMAN-SUNDBERG, M. - **Hormone- and substrate-regulated intracellular degradation of cytochrome P450 (2E1) involving MgATP-activated rapid proteolysis in the endoplasmic reticulum membranes**. J. Biol. Chem., 267 (1992) 15765–15769.
10. KIKUCHI, H. - **Regulation of cytochrome P-450 (CYP) genes by nuclear receptors**. Nihon Eiseigaku Zasshi., 56 (2002) 622–628.
11. TOMPKINS, L. M. and WALLACE, A. D. - **Mechanisms of cytochrome P450**

- induction.** *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, 21 (2007) 176–181.
12. PELKONEN, O., TURPEINEN, M., HAKKOLA, J., HONKAKOSKI, P., HUKKANEN, J. and RAUNIO, H. - **Inhibition and induction of human cytochrome P450 enzymes: Current status.** *Arch. Toxicol.*, 82 (2008) 667–715.
13. DZELETOVIC, N., MCGUIRE, J., DAUJAT, M., THOLANDER, J., EMA, M., FUJII-KURIYAMA, Y., BERGMAN, J., MAUREL, P. and POELLINGER, L. - **Regulation of dioxin receptor function by omeprazole.** *J. Biol. Chem.*, 272 (1997) 12705–12713.
14. VENKATESAN, K. - **Pharmacokinetic drug interactions with rifampicin.** *Clin Pharmacokinet*, 22 (1992) 47–65.
15. CHEN, J. and RAYMOND, K. - **Roles of rifampicin in drug-drug interactions: Underlying molecular mechanisms involving the nuclear pregnane X receptor.** *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, 5 (2006) 1–11.
16. JIN, M., ANDE, A., KUMAR, A. and KUMAR, S. - **Regulation of cytochrome P450 2e1 expression by ethanol: Role of oxidative stress-mediated pkc/jnk/sp1 pathway.** *Cell Death Dis.*, 4 (2013) e554-10.
17. NOVAK, R. F. and WOODCROFT, K. J. - **The Alcohol-inducible form of Cytochrome P450 (CYP 2E1): Role in Toxicology and Regulation of Expression.** *Arch. Pharm. Res.*, 23 (2000) 267–282.
18. ROBERTS, B. J., SONG, B. J., SOH, Y., PARK, S. S. and SHOAF, S. E. - **Ethanol induces CYP2E1 by protein stabilization: Role of ubiquitin conjugation in the rapid degradation of CYP2E1.** *J. Biol. Chem.*, 270 (1995) 29632–29635.
19. ELIASSON, E., JOHANSSON, I. and INGELMAN-SUNDBERG, M. - **Substrate-, hormone-, and cAMP-regulated cytochrome P450 degradation.** *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 87 (1990) 3225–9.
20. HINSON, J. A. and AL, J. E. T. - **Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity.** 31 (2003) 1499–1506.
21. YOON, E., BABAR, A., CHOUDHARY, M., KUTNER, M. and PYRSOPOULOS, N. - **Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity: a Comprehensive Update.** *J. Clin. Transl. Hepatol.*, 4 (2016) 131–142.
22. HOLLENBERG, P. F. - **Characteristics and common properties of inhibitors,**

- inducers, and activators of CYP enzymes.** *Drug Metab. Rev.*, 34 (2002) 17–35.
23. CORREIA, M. A. and HOLLENBERG, P. F. - **Inhibition of Cytochrome P450 Enzymes.** in *Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry* (ed. de Montellano, P. R.) (Springer International Publishing, 2015). 177–259 doi:10.1007/978-3-319-12108-6\_5.
24. DICKINS, M., ELCOMBE, C. R., MOLONEY, S. J., NETTER, K. J. and BRIDGES, J. W. - **Further studies on the dissociation of the isosafrole metabolite-cytochrome p-450 complex.** *Biochem. Pharmacol.*, 28 (1979) 231–238.
25. ULLRICH, V. - **Mechanism of Microsomal Monooxygenases and Drug Toxicity.** in *Biological Reactive Intermediates: Formation, Toxicity, and Inactivation* (eds. Jollow, D. J. et al.) (Springer US, 1977). 65–80 doi:10.1007/978-1-4613-4124-6\_6.
26. ULLRICH, V. and SCHNABEL, K. H. - **Formation And Binding Of Carbanions By Cytochrome P-450 Of Liver Microsomes.** *Drug Metab. Dispos.*, 1 (1973) 176 LP-183.
27. W MANIER, J., CHANG, W. W. L., P KIRCHNER, J. and BELTAOS, E. - **Hepatotoxicity associated with Ticrynafen - A uricosuric diuretic.** *Am. J. Gastroenterol.*, 77 (1982) 401–404.
28. SERLIN, Y., SHELEF, I., KNYAZER, B., FRIEDMAN, A., BIOLOGY, C. and SCIENCES, B. - **HHS Public Access.** (2016) 2–6 doi:10.1016/j.semcd.2015.01.002.Anatomy.
29. ABBOTT, N. J., RÖNNBÄCK, L. and HANSSON, E. - **Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier.** *Nat. Rev. Neurosci.*, 7 (2006) 41–53.
30. DECLÈVES, X., JACOB, A., YOUSIF, S., SHAWAHNA, R., POTIN, S. and SCHERRMANN, J.-M. - **Interplay of Drug Metabolizing CYP450 Enzymes and ABC Transporters in the Blood-Brain Barrier.** *Curr. Drug Metab.*, 12 (2011) 732–741.
31. MAHRINGER, A. and FRICKER, G. - **ABC transporters at the blood–brain barrier.** *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, 12 (2016) 499–508.
32. DAUCHY, S., DUTHEIL, F., WEAVER, R. J., CHASSOUX, F., DAUMAS-DUPOUR, C., COURAUD, P. O., SCHERRMANN, J. M., DE WAZIERS, I. and DECLÈVES, X. - **ABC transporters, cytochromes P450 and their main transcription factors: Expression at the human blood-brain barrier.** *J. Neurochem.*, 107 (2008) 1518–1528.
33. DUTHEIL, F., BEAUNE, P. and LORIOT, M. A. - **Xenobiotic metabolizing enzymes in the central nervous system: Contribution of cytochrome P450 enzymes in normal**

and pathological human brain. *Biochimie*, 90 (2008) 426–436.

34. DUTHEIL, F., DAUCHY, S., DIRY, M., SAZDOVITCH, V., CLOAREC, O., MELLOTTÉE, L., BIÈCHE, I., INGELMAN-SUNDBERG, M., FLINOIS, J. P., DE WAZIERS, I., BEAUNE, P., DECLÈVES, X., DUYCKAERTS, C. and LORIOT, M. A. - **Xenobiotic-metabolizing enzymes and transporters in the normal human brain: Regional and cellular mapping as a basis for putative roles in cerebral function.** *Drug Metab. Dispos.*, 37 (2009) 1528–1538.

35. DUTHEIL, F., JACOB, A., DAUCHY, S., BEAUNE, P., SCHERRMANN, J.-M., DECLÈVES, X. and LORIOT, M.-A. - **ABC transporters and cytochromes P450 in the human central nervous system: influence on brain pharmacokinetics and contribution to neurodegenerative disorders.** *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, 6 (2010) 1161–1174.

36. SHAWAHNA, R., UCHIDA, Y., DECLEVES, X., OHTSUKI, S., YOUSIF, S., DAUCHY, S., JACOB, A., CHASSOUX, F., DAUMAS-DUPORT, C., COURAUD, P. O., TERASAKI, T. and SCHERRMANN, J. M. - **Transcriptomic and quantitative proteomic analysis of transporters and drug metabolizing enzymes in freshly isolated human brain microvessels.** *Mol. Pharm.*, 8 (2011) 1332–1341.

37. WALTHER, B., GHERSI-EGEA, J. F., MINN, A. and SIEST, G. - **Subcellular distribution of cytochrome P-450 in the brain.** *Brain Res.*, 375 (1986) 338–344.

38. BHAGWAT, S. V., BOYD, M. R. and RAVINDRANATH, V. - **Multiple forms of cytochrome P450 and associated monooxygenase activities in human brain mitochondria.** *Biochem. Pharmacol.*, 59 (2000) 573–582.

39. MUSKHELISHVILI, L., THOMPSON, P. A., KUSEWITT, D. F., WANG, C. and KADLUBAR, F. F. - **In situ hybridization and immunohistochemical analysis of cytochrome P450 IBI expression in human normal tissues.** *J Histochem Cytochem*, 49 (2001) 229–236.

40. RIEDER, C. R. M., PARSONS, R. B., FITCH, N. J. S., WILLIAMS, A. C. and RAMSDEN, D. B. - **Human brain cytochrome P450 IBI: Immunohistochemical localization in human temporal lobe and induction by dimethylbenz(a)anthracene in astrocytoma cell line (MOG-G-CCM).** *Neurosci. Lett.*, 278 (2000) 177–180.

41. GARCÍA-SUÁSTEGUI, W. A., RAMOS-CHÁVEZ, L. A., RUBIO-OSORNIO, M., CALVILLO-VELASCO, M., ATZIN-MÉNDEZ, J. A., GUEVARA, J. and SILVA-ADAYA, D. - **The Role of CYP2E1 in the Drug Metabolism or Bioactivation in the Brain.** *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2017 (2017).

42. RAVINDRANATH, V., ANANDATHEERTHAVARADA, H. K. and SHANKAR, S. K. - **NADPH cytochrome P-450 reductase in rat, mouse and human brain.** *Biochem. Pharmacol.*, 39 (1990) 1013–1018.
43. MANN, A., MIKSYS, S. L., GAEDIGK, A., KISH, S. J., MASH, D. C. and TYNDALE, R. F. - **The neuroprotective enzyme CYP2D6 increases in the brain with age and is lower in Parkinson's disease patients.** *Neurobiol. Aging*, 33 (2012) 2160–2171.
44. ANDERSON, K. W., MAST, N., HUDGENS, J. W., LIN, J. B., TURKO, I. V. and PIKULEVA, I. A. - **Mapping of the allosteric site in cholesterol hydroxylase CYP46A1 for efavirenz, a drug that stimulates enzyme activity.** *J. Biol. Chem.*, 291 (2016) 11876–11886.
45. MOUTINHO, M., NUNES, M. J. and RODRIGUES, E. - **Cholesterol 24-hydroxylase: Brain cholesterol metabolism and beyond.** *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids*, 1861 (2016) 1911–1920.
46. NAVARRO-MABARAK, C., CAMACHO-CARRANZA, R. and ESPINOSA-AGUIRRE, J. J. - **Cytochrome P450 in the central nervous system as a therapeutic target in neurodegenerative diseases.** *Drug Metab. Rev.*, 50 (2018) 95–108.
47. MENKEN, M., MUNSAT, T. L. and TOOLE, J. F. - **The global burden of disease study: implications for neurology.** *Arch.Neurol.*, 57 (2000) 418–420.
48. MIKSYS, S. and TYNDALE, R. F. - **Brain drug-metabolizing cytochrome P450 enzymes are active in vivo, demonstrated by mechanism-based enzyme inhibition.** *Neuropsychopharmacology*, 34 (2009) 634–640.
49. KHOKHAR, J. Y., MIKSYS, S. L. and TYNDALE, R. F. - **Rat brain CYP2B induction by nicotine is persistent and does not involve nicotinic acetylcholine receptors.** *Brain Res.*, 1348 (2010) 1–9.
50. KHOKHAR, J. Y. and TYNDALE, R. F. - **Drug metabolism within the brain changes drug response: Selective manipulation of brain CYP2B alters propofol effects.** *Neuropsychopharmacology*, 36 (2011) 692–700.
51. MIKSYS, S. L. and TYNDALE, R. F. - **Drug-metabolizing cytochrome P450s in the brain.** *J. Psychiatry Neurosci.*, 27 (2002) 406–415.
52. MIKSYS, S., LERMAN, C., SHIELDS, P. G., MASH, D. C. and TYNDALE, R. F. - **Smoking, alcoholism and genetic polymorphisms alter CYP2B6 levels in human brain.** *Neuropharmacology*, 45 (2003) 122–132.

53. YAMAZAKI, H., INOUE, K., HASHIMOTO, M. and SHIMADA, T. - **Roles of CYP2A6 and CYP2B6 in nicotine C-oxidation by human liver microsomes.** Arch. Toxicol., 73 (1999) 65–70.
54. KRETH, K.-P., KOVAR, K.-A., SCHWAB, M. and ZANGER, U. M. - **Identification of the Human Cytochromes P450 Involved in the Oxidative Metabolism of ‘Ecstasy’ - Related Designer Drugs.** Biochem.Pharmacol., 59 (2000) 1563–1571.
55. PELLINEN, P., KULMALA, L., KONTTILA, J., AURIOLA, S., PASANEN, M. and JUVONEN, R. - **Kinetic characteristics of norcocaine N-hydroxylation in mouse and human liver microsomes: Involvement of CYP enzymes.** Arch. Toxicol., 74 (2000) 511–520.
56. FERGUSON, C. S., MIKSYS, S., PALMOUR, R. M. and TYNDALE, R. F. - **Ethanol self-administration and nicotine treatment induce brain levels of CYP2B6 and CYP2E1 in African green monkeys.** Neuropharmacology, 72 (2013) 74–81.
57. MANN, A., MIKSYS, S., LEE, A., MASH, D. C. and TYNDALE, R. F. - **Induction of the drug metabolizing enzyme CYP2D in monkey brain by chronic nicotine treatment.** Neuropharmacology, 55 (2008) 1147–1155.
58. UNO, Y., IWASAKI, K., YAMAZAKI, H. and NELSON, D. R. - **Macaque cytochromes P450: Nomenclature, transcript, gene, genomic structure, and function.** Drug Metab. Rev., 43 (2011) 346–361.
59. MIKSYS, S. and TYNDALE, R. F. - **The unique regulation of brain cytochrome P450 2 (CYP2) family enzymes by drugs and genetics.** Drug Metab. Rev., 36 (2004) 313–333.
60. YU, A., IDLE, J. and KRAUSZ, K. - **Contribution of Individual Cytochrome P450 Isozymes to the O-Demethylation of the Psychotropic  $\beta$ -Carboline Alkaloids Harmaline and Harmine.** J. Pharmacol. ..., 305 (2003) 315–322.
61. MILLER, R. T., MIKSYS, S., HOFFMANN, E. and TYNDALE, R. F. - **Ethanol self-administration and nicotine treatment increase brain levels of CYP2D in African green monkeys.** Br. J. Pharmacol., 171 (2014) 3077–3088.
62. MCMILLAN, D. M. and TYNDALE, R. F. - **Nicotine increases codeine analgesia through the induction of brain CYP2D and central activation of codeine to morphine.** Neuropsychopharmacology, 40 (2015) 1804–1812.
63. MCMILLAN, D. M. and TYNDALE, R. F. - **Inducing rat brain CYP2D with nicotine increases the rate of codeine tolerance; predicting the rate of tolerance from**

**acute analgesic response.** *Biochem. Pharmacol.*, 145 (2017) 158–168.

64. HOWARD, L. A., MIKSYS, S., HOFFMANN, E., MASH, D. and TYNDALE, R. F. - **Brain CYP2E1 is induced by nicotine and ethanol in rat and is higher in smokers and alcoholics.** *Br. J. Pharmacol.*, 138 (2003) 1376–1386.

65. JOSHI, M. and TYNDALE, R. F. - **Regional and cellular distribution of CYP2E1 in monkey brain and its induction by chronic nicotine.** *Neuropharmacology*, 50 (2006) 568–575.

66. MAST, N., ANDERSON, K. W., JOHNSON, K. M., PHAN, T. T. N., GUENGERICH, F. P. and PIKULEVA, I. A. - **In vitro cytochrome P450 46A1 (CYP46A1) activation by neuroactive compounds.** *J. Biol. Chem.*, 292 (2017) 12934–12946.

67. MAST, N., LINGER, M., CLARK, M., WISEMAN, J., STOUT, C. D. and PIKULEVA, I. A. - **In Silico and Intuitive Predictions of CYP46A1 Inhibition by Marketed Drugs with Subsequent Enzyme Crystallization in Complex with Fluvoxamine.** *Mol. Pharmacol.*, 82 (2012) 824–834.

68. MAST, N., ZHENG, W., STOUT, C. D. and PIKULEVA, I. A. - **Antifungal Azoles: Structural Insights into Undesired Tight Binding to Cholesterol-Metabolizing CYP46A1.** *Mol. Pharmacol.*, 84 (2013) 86–94.

69. MAST, N., LI, Y., LINGER, M., CLARK, M., WISEMAN, J. and PIKULEVA, I. A. - **Pharmacologic stimulation of Cytochrome P450 46A1 and Cerebral Cholesterol Turnover in Mice.** *J. Biol. Chem.*, 289 (2014) 3529–3538.

70. DORSEY, E. R. and BLOEM, B. R. - **The Parkinson pandemic - A call to action.** *JAMA Neurol.*, 75 (2018) 9–10.

71. DEMAAGD, G. and PHILIP, A. - **Parkinson's Disease and Its Management: Part I: Disease Entity, Risk Factors, Pathophysiology, Clinical Presentation, and Diagnosis.** *P T*, 40 (2015) 504–32.

72. BROOKS, W. J., JARVIS, M. F. and WAGNER, G. C. - **Astrocytes as a primary locus for the conversion MPTP into MPP+.** *J. Neural Transm.*, 76 (1989) 1–12.

73. MIKSYS, S. and TYNDALE, R. F. - **Cytochrome P450-mediated drug metabolism in the brain.** *J. Psychiatry Neurosci.*, 38 (2013) 152–163.

74. VAGLINI, F., PARDINI, C., VIAGGI, C., BARTOLI, C., DINUCCI, D. and CORSINI, G. U. -

**Involvement of cytochrome P450 2E1 in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced mouse model of Parkinson's disease.** *J. Neurochem.*, 91 (2004) 285–298.

75. NA, S., LI, J., ZHANG, H., LI, Y., YANG, Z., ZHONG, Y., DONG, G., YANG, J. and YUE, J. - **The induction of cytochrome P450 2E1 by ethanol leads to the loss of synaptic proteins via PPAR $\alpha$  down-regulation.** *Toxicology*, 385 (2017) 18–27.

76. GILHAM, D. E., CAIRNS, W., PAINE, M. J. I. and MODI, S. - **Metabolism of MPTP by cytochrome P450 2D6 and the demonstration of 2D6 mRNA in human foetal and adult brain by in situ hybridization.** *Metab. Clin. Exp.*, (1997) 111–125.

77. HERRAIZ, T. and CHAPARRO, C. - **Human monoamine oxidase enzyme inhibition by coffee and  $\beta$ -carbolines norharman and harman isolated from coffee.** *Life Sci.*, 78 (2006) 795–802.

78. ELBAZ, A., DUFOUIL, C. and ALPÉROVITCH, A. - **Interaction between genes and environment in neurodegenerative diseases.** *Comptes Rendus - Biol.*, 330 (2007) 318–328.

79. MANN, A. and TYNDALE, R. F. - **Cytochrome P450 2D6 enzyme neuroprotects against 1-methyl-4-phenylpyridinium toxicity in SH-SY5Y neuronal cells.** *Eur. J. Neurosci.*, 31 (2010) 1185–1193.

80. YUE, J., MIKSYS, S., HOFFMANN, E. and TYNDALE, R. F. - **Chronic nicotine treatment induces rat CYP2D in the brain but not in the liver: an investigation of induction and time course.** *J Psychiatry Neurosci*, 33 (2008) 54–63.

81. ALVES, G., KURZ, M., LIE, S. A. and LARSEN, J. P. - **Cigarette smoking in Parkinson's disease: Influence on disease progression.** *Mov. Disord.*, 19 (2004) 1087–1092.

82. MIKSYS, S. and TYNDALE, R. F. - **Nicotine induces brain CYP enzymes: relevance to Parkinson's disease.** *J. Neural Transm. Suppl.*, (2006) 177–180 doi:10.1007/978-3-211-45295-0.

83. DUTHEY, B. - **Background Paper 6.11 Alzheimer Disease and other Dementias, Update on 2004.** *World Heal. Organ.*, (2013) 1–77 doi:10.1038/nprot.2013.155.

84. **World Alzheimer Report 2015.** [Accessed: 5th june 2018]. Available at: <http://www.worldalzreport2015.org/>

85. **Alzheimer's Disease Statistics - Alzheimer's News Today.** [Accessed: 5th June 2018]. Available at: <https://alzheimersnewstoday.com/alzheimers-disease-statistics/>
86. **Alzheimer's Statistics.** [Accessed: 5th June 2018]. Available at: <https://www.alzheimers.net/resources/alzheimers-statistics/>
87. DAVEY, D. A. - **Alzheimer's disease and vascular dementia: one potentially preventable and modifiable disease? Part II: Management, prevention and future perspective.** 4 (2014) 261–270.
88. **Alzheimer's disease | Alzheimer's Society.** [Accessed: 5th June 2018]. Available at: <https://www.alzheimers.org.uk/about-dementia/types-dementia/alzheimersdisease#content-start>
89. VANCE, J. E. - **Dysregulation of cholesterol balance in the brain: contribution to neurodegenerative diseases.** Dis. Model. Mech., 5 (2012) 746–755.
90. CUTLER, R. G., KELLY, J., STORIE, K., PEDERSEN, W. A., TAMMARA, A., HATANPAA, K., TRONCOSO, J. C. and MATTSON, M. P. - **Involvement of oxidative stress-induced abnormalities in ceramide and cholesterol metabolism in brain aging and Alzheimer's disease.** Pnas, 101 (2004) 2070–75.
91. PAPPOLLA, M. A., BRYANT-THOMAS, T. K., HERBERT, D., PACHECO, J., FABRA GARCIA, M., MANJON, M., GIRONES, X., HENRY, T. L., MATSUBARA, E., ZAMBON, D., WOLOZIN, B., SANO, M., CRUZ-SANCHEZ, F. F., THAL, L. J., PETANCESKA, S. S. and REFOLO, L. M. - **Mild hypercholesterolemia is an early risk factor for the development of Alzheimer amyloid pathology.** Neurology, 61 (2003) 199–205.
92. BORRONI, B., ARCHETTI, S., AGOSTI, C., AKKAWI, N., BRAMBILLA, C., CAIMI, L., CALTAGIRONE, C., DI LUCA, M. and PADOVANI, A. - **Intronic CYP46 polymorphism along with ApoE genotype in sporadic Alzheimer Disease: From risk factors to disease modulators.** Neurobiol. Aging, 25 (2004) 747–751.
93. MICHIKAWA, M. - **The Role of Cholesterol in Pathogenesis of Alzheimer's Disease.** Mol. Neurobiol., 27 (2003) 1–12.
94. BROWN, J., THEISLER, C., SILBERMAN, S., MAGNUSON, D., GOTTARDI-LITTELL, N., LEE, J. M., YAGER, D., CROWLEY, J., SAMBAMURTI, K., RAHMAN, M. M., REISS, A. B., ECKMAN, C. B. and WOLOZIN, B. - **Differential expression of cholesterol hydroxylases in Alzheimer's disease.** J. Biol. Chem., 279 (2004) 34674–34681.

95. DJELTI, F. et al. - **CYP46A1 inhibition, brain cholesterol accumulation and neurodegeneration pave the way for Alzheimer's disease.** *Brain*, 138 (2015) 2383–2398.
96. MAST, N., SAADANE, A., VALENCIA-OLVERA, A., CONSTANS, J., MAXFIELD, E., ARAKAWA, H., LI, Y., LANDRETH, G. and PIKULEVA, I. A. - **Cholesterol-metabolizing enzyme cytochrome P450 46A1 as a pharmacologic target for Alzheimer's disease.** *Neuropharmacology*, 123 (2017) 465–476.
97. MEYER, R. P., PODVINEC, M. and MEYER, U. A. - **Cytochrome P450 CYP1A1 accumulates in the cytosol of kidney and brain and is activated by heme.** *Mol. Pharmacol.*, 62 (2002) 1061–1067.
98. FERGUSON, C. S. and TYNDALE, R. F. - **Cytochrome P450 enzymes in the brain: Emerging evidence of biological significance.** *Trends Pharmacol. Sci.*, 32 (2011) 708–714.
99. MA, X., IDLE, J. R., KRAUSZ, K. W. and GONZALEZ, F. J. - **Metabolism of Melatonin By Human Cytochromes P450 Abstract : Building**, 33 (2005) 489–494.
100. DAUCHY, S., MILLER, F., COURAUD, P. O., WEAVER, R. J., WEKSLER, B., ROMERO, I. A., SCHERRMANN, J. M., DE WAZIERS, I. and DECLÈVES, X. - **Expression and transcriptional regulation of ABC transporters and cytochromes P450 in hCMEC/D3 human cerebral microvascular endothelial cells.** *Biochem. Pharmacol.*, 77 (2009) 897–909.
101. CHINTA, S. J., PAI, H. V., UPADHYA, S. C., BOYD, M. R. and RAVINDRANATH, V. - **Constitutive expression and localization of the major drug metabolizing enzyme, cytochrome P4502D in human brain.** *Mol. Brain Res.*, 103 (2002) 49–61.
102. WANG, X., LI, J., DONG, G. and YUE, J. - **The endogenous substrates of brain CYP2D.** *Eur. J. Pharmacol.*, 724 (2014) 211–218.
103. TOSELLI, F., BOOTH DEPAZ, I. M., WORRALL, S., ETHERIDGE, N., DODD, P. R., WILCE, P. A. and GILLAM, E. M. J. - **Expression of CYP2E1 and CYP2U1 proteins in amygdala and prefrontal cortex: Influence of alcoholism and smoking.** *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 39 (2015) 790–797.
104. BOUSSADIA, B., GHOSH, C., PLAUD, C., PASCUSI, J. M., DE BOCK, F., ROUSSET, M. C., JANIGRO, D. and MARCHI, N. - **Effect of status epilepticus and antiepileptic drugs on CYP2E1 brain expression.** *Neuroscience*, 281 (2014) 124–134.

105. JONES, G., PROSSER, D. E. and KAUFMANN, M. - **Cytochrome P450-Mediated Metabolism Of Vitamin D**. *J. Lipid Res.*, (2013).
106. DHERS, L., DUCASSOU, L., BOUCHER, J. L. and MANSUY, D. - **Cytochrome P450 2UI, a very peculiar member of the human P450s family**. *Cell. Mol. Life Sci.*, 74 (2017) 1859–1869.
107. CHUANG, S. S., HELVIG, C., TAIMI, M., RAMSHAW, H. A., COLLOP, A. H., AMAD, M., WHITE, J. A., PETKOVICH, M., JONES, G. and KORCZAK, B. - **CYP2UI, a Novel Human Thymus- and Brain-specific Cytochrome P450, Catalyzes  $\omega$ - and ( $\omega$ -1)-Hydroxylation of Fatty Acids**. *J. Biol. Chem.*, 279 (2004) 6305–6314.