

Rodrigo Conduto Dionísio Marques Bicho

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária — Farmácia Benfica, Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar — Hospital da Luz Lisboa e Monografia - “*Cellular Therapy and Diabetes. How far are we?*” no contexto da Unidade de Estágio Curricular orientado, respetivamente, por Doutora Mariana Guimarães, Doutor Rui Rodrigues e Professor Doutor António José Ribeiro, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Setembro de 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Imagem construída a partir de :

<https://www.drugstorenews.com/pharmacy/semma-therapeutics-developing-stem-cell-therapy-type-1-diabetes/>

http://medcell.med.yale.edu/histology/endocrine_systems_lab/islets_of_langerhans.php

<https://viacyte.com/technology/stem-cell-engineering>

Rodrigo Conduto Dionísio Marques Bicho

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária – Farmácia Benfica, Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar – Hospital da Luz Lisboa e Monografia - “*Cellular Therapy and Diabetes. How far are we?*” no contexto da Unidade de Estágio Curricular, orientado, respetivamente, por Doutora Mariana Guimarães, Doutor Rui Rodrigues e Professor Doutor António José Ribeiro, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Rodrigo Conduto Dionísio Marques Bicho, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº2013145407, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo dos Relatórios de Estágio e Monografia “**Cellular Therapy and Diabetes. How far are we?**” apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 06 de Setembro de 2018.

(Rodrigo Conduto Dionísio Marques Bicho)

Agradecimentos

Aos meus pais, sempre presentes e me deram sempre todas as condições necessárias para ter sucesso neste percurso.

Ao meu irmão, o meu melhor amigo, pelo apoio incondicional ao longo destes cinco anos.

À minha avó Isabel, que estando longe, esteve sempre perto de mim, encorajando-me a conseguir sempre mais.

À minha avó Céu, que guardarei sempre na minha memória.

À Cátia, fiel e altruísta, com o dom de me motivar e a querer sempre mais, pelo apoio na reta final deste percurso.

Ao Alexandre, o meu segundo “irmão”, sempre pronto para me animar nos maus momentos.

Ao João, sempre disponível para ajudar, uma amizade que tenho a sorte de guardar para toda a vida.

Aos meus amigos, com os quais tive experiências inesquecíveis e me alegraram sempre.

À Dr. Mariana Guimarães e à restante excelente equipa da Farmácia Benfica, por toda a ajuda e o acolhimento dado.

Ao meu orientador Prof Dr. António Ribeiro pela sua disponibilidade e colaboração ao longo desta etapa.

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS	1
RESUMO.....	3
ABSTRACT	4
CAPÍTULO I – RELATÓRIO DE ESTÁGIO FARMÁCIA COMUNITÁRIA	6
1. INTRODUÇÃO	6
2. ANÁLISE SWOT	7
2.1. PONTOS FORTES	7
2.1.1. <u>Acolhimento</u>	7
2.1.2. <u>Estrutura do plano de estágio</u>	7
2.1.2.1. <u>Back-office</u>	8
2.1.2.2. <u>Receituário</u>	9
2.1.2.3. <u>Gabinete de apoio ao utente</u>	9
2.1.2.4. <u>Atendimento ao público</u>	10
2.1.3. <u>Serviço de dispensa semanal</u>	11
2.1.4. <u>Sazonalidade</u>	11
2.1.5. <u>Localização</u>	12
2.2. PONTOS FRACOS	12
2.2.1. <u>Inexperiência</u>	12
2.2.2. <u>Desconfiança em relação ao estagiário</u>	13
2.2.3. <u>Manipulados</u>	13
2.3. OPORTUNIDADES	14
2.3.1. <u>Formações internas e externas</u>	14
2.3.2. <u>Sistema Kaizen</u>	15
2.3.3. <u>Integração num grupo de farmácias</u>	15
2.4. AMEACAS	16
2.4.1. <u>Ruturas de stock</u>	16
2.4.2. <u>Concorrência e venda de MNSRM fora das farmácias</u>	16
2.4.3. <u>Prática insuficiente</u>	17
3. CONCLUSÃO.....	17
CAPÍTULO 2 – RELATÓRIO DE ESTÁGIO FARMÁCIA HOSPITALAR	19
1. INTRODUÇÃO	19

2. HOSPITAL DA LUZ DE LISBOA	19
3. SERVIÇOS FARMACÊUTICOS DO HOSPITAL DA LUZ	19
3.1. <u>Instalações</u>	20
3.2. <u>Gestão de medicamentos</u>	20
3.3. <u>Distribuição</u>	21
3.3.1. <u>Distribuição de Medicamentos Sujeitos a Legislação Especial</u>	22
3.3.1.1. <u>Estupefacientes e Psicotrópicos</u>	22
3.3.1.2. <u>Hemoderivados</u>	23
3.4. <u>Farmacotecnia</u>	23
3.4.1. <u>Preparação e Manipulação de Citotóxicos</u>	23
3.4.2. <u>Nutrição Parentérica</u>	24
3.4.3. <u>Preparação de Não-Estéreis</u>	24
3.4.4. <u>Reembalagem</u>	24
3.5. <u>Ensaio Clínicos</u>	25
3.6. <u>Farmácia de Ambulatório</u>	25
3.7. <u>Validação</u>	26
4. ANÁLISE SWOT	27
4.1. <u>Pontos fortes</u>	27
4.1.1. <u>Equipa de trabalho</u>	27
4.1.2. <u>Bibliografia fornecida</u>	27
4.1.3. <u>Infraestruturas</u>	27
4.1.4. <u>Plano de estágio</u>	27
4.1.5. <u>Comunicação entre serviços</u>	28
4.1.6. <u>Sistemas Informáticos</u>	28
4.2. <u>Pontos fracos</u>	28
4.2.1. <u>Duração do estágio</u>	28
4.2.2. <u>Inexperiência e plano de estudos do MICF</u>	28
4.2.3. <u>Sistemas informáticos</u>	28
4.3. <u>Oportunidades</u>	29
4.3.1. <u>Realização de um trabalho final de estágio</u>	29
4.3.2. <u>Visitas Clínicas</u>	29
4.3.3. <u>Ida ao Bloco Operatório</u>	29
4.4. <u>Ameaças</u>	30
4.4.1. <u>Carreira de Farmacêutico Hospitalar</u>	30
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	30

CAPÍTULO 3 – CELLULAR THERAPY AND DIABETES. HOW FAR ARE WE?

.....	32
1. INTRODUCTION	32
2. ISLET TRANSPLANTATION	34
3. ALTERNATIVE SOURCES OF B CELLS	37
4. PLURIPOTENT STEM CELLS	38
5. TRANSDIFFERENTIATION	41
5.1. <u>Alpha-to-β</u>	42
5.2. <u>Exocrine-to-β</u>	43
5.2.1. <u>Duct epithelial cells</u>	43
5.2.2. <u>Acinar cells</u>	43
5.2.3. <u>Liver Cells</u>	44
5.2.4. <u>Gastrointestinal cells</u>	44
6. STEM CELLS AND IMMUNOGENICITY	45
7. DISCUSSION	47
8. CONCLUSION	48
9. BIBLIOGRAPHY	49

Lista de Abreviaturas

- AAV** – *Adeno Associated Virus*
- ANF** – *Associação Nacional de Farmácias*
- ARX** – *Aristaless Related Omeobox*
- CCF** – *Centro de Conferência de Facturas*
- CFLH** – *Câmara de Fluxo Laminar Horizontal*
- CFLV** – *Câmara de Fluxo Laminar Vertical v*
- CXCL12** – *C-X-C Motif Chemokin Ligand 12*
- DCI** – *Denominação Comum Internacional*
- EC** – *Ensaio Clínico*
- EGF** – *Epidermal Growth Factor*
- EMT** – *Epithelial-Mesenchymal Transition*
- ESC** – *Embryonic Stem Cells*
- FH** – *Farmácia Hospitalar*
- FIFO** – *First-In First-Out*
- FOXO1** – *Forkhead Box Protein O 1*
- GABA** – *Gamma-Aminobutyric Acid*
- GLP-1** – *Glucagon-Like Peptide 1*
- HDL** – *High Density Lipoprotein*
- HDM** – *Hospital de Dia Médico*
- HL** – *Hospital da Luz*
- HLA** – *Human Leukocyte Antigen*
- IL-2** – *Interleukine-2*
- iPSC** – *Induced Pluripotent Stem Cells*
- JCI** – *Joint Commission International*
- JNK** – *c-Jun N-Terminal Kinases*
- KLF-4** – *Kruppel-Like Factor 4*
- LDL** – *Low Density Lipoprotein*
- MAF-A** – *MAF bZIP transcription factor A*
- MHC** – *Major Histocompatibility Complex*
- MMU** – *Medication Management and Use*

MNSRM – Medicamento Não Sujeito A Receita Médica

MSRM – Medicamento Sujeito A Receita Médica

NGN-3 – *Neurogenine 3*

NOD – *Non-Obese Diabetic*

OCT-4 – *Octamer-Binding Protein 4*

OKT3 – *Muromonab-CD3*

PAX4 – *Paired Box 4*

PDX1 – *Pancreatic and Duodenal Omeobox 1*

SCID – *Severe Combined Immunodeficiency*

SF – Serviços Farmacêuticos

SNS – Sistema Nacional de Saúde

SOX2 – *Sex Determining Region Y-Box 2*

STZ – *Streptozotocin*

T1D – *Type 1 Diabetes*

T2D – *Type 2 Diabetes*

TF – Técnico de Farmácia

TGF- β – *Transforming Growth Factor β*

TNF- α – *Tumor Necrosis Factor α*

WHO – *World Health Organization*

Resumo

O presente documento é constituído por dois relatórios de estágio realizados no âmbito da Unidade Curricular “Estágio” do MICF, sendo eles em Farmácia Comunitária e Farmácia Hospitalar, respetivamente, bem como por uma monografia de seu título “Cellular therapy and Diabetes. How far are we?”.

Os relatórios de estágio contêm uma breve descrição das funções desempenhadas, assim como uma análise SWOT, na qual são expostos os pontos fortes, fracos, oportunidades e ameaças característicos de cada estágio.

No último capítulo deste documento é apresentado um ponto de situação no que diz respeito às terapêuticas atuais no tratamento da Diabetes, focando essencialmente na terapia celular e o progresso realizado ao longo dos anos.

Nos últimos anos a prevalência da Diabetes tem vindo a aumentar globalmente e o seu tratamento tornou-se numa prioridade para muitos investigadores. A técnica de controlo mais utilizada nesta doença é a administração exógena de insulina, no entanto, uma das suas desvantagens são as reações hipoglicémicas. Devido a esta razão, a terapia celular tornou-se num foco principal e têm sido desenvolvidos novos métodos de controlo glicémico e que possam, potencialmente, reverter a doença.

O transplante de ilhéus surgiu há várias décadas como um promissor procedimento no que diz respeito ao controlo dos níveis de glucose no sangue, considerando-se um candidato para potencial cura da diabetes. Os riscos associados ao transplante e a falta de doadores impedem este método de ser uma escolha de tratamento unânime.

A geração de células capazes de produzir insulina a partir de células estaminais e a descoberta de novas fontes de células β são atualmente as estratégias mais promissoras de substituição e restauração da população de células β em portadores de diabetes.

Apesar de todo o progresso alcançado ao longo dos anos, ainda é preciso ultrapassar vários obstáculos para tornar estes tratamentos consensuais, tal como o risco de imunogenicidade iminente e a necessidade de recorrer a terapias imunossupressoras.

Palavras-chave: Diabetes; Terapia Celular; Células Estaminais; Imunogenicidade

Abstract

This document consists of two internship reports carried out within the scope of the Curricular Unit "Internship" of the MICE, with them being Community Pharmacy and Hospital Pharmacy, respectively, as well as a monograph entitled "Cellular therapy and Diabetes. How far are we? ".

The internship reports contain a brief description of the functions performed, as well as a SWOT analysis, which outlines the strengths, weaknesses, opportunities and threats characteristic of each internship.

The last chapter of this paper presents the current therapies in the treatment of Diabetes, focusing essentially on cell therapy and the progress made over the years.

In recent years Diabetes prevalence has been increasing globally and its treatment has become a priority for many researchers. The most commonly used control technique in this disease is the exogenous administration of insulin, however, one of its disadvantages is the hypoglycemic reactions. Due to this reason, cell therapy has become the focus among the new methods developed for glycemic control and potentially disease reverting.

Islet transplantation emerged several decades ago as a promising procedure for the control of blood glucose levels and as a candidate for potential diabetes cure. The risks associated with transplantation and shortage of donors hampered this method from being a unanimous treatment choice.

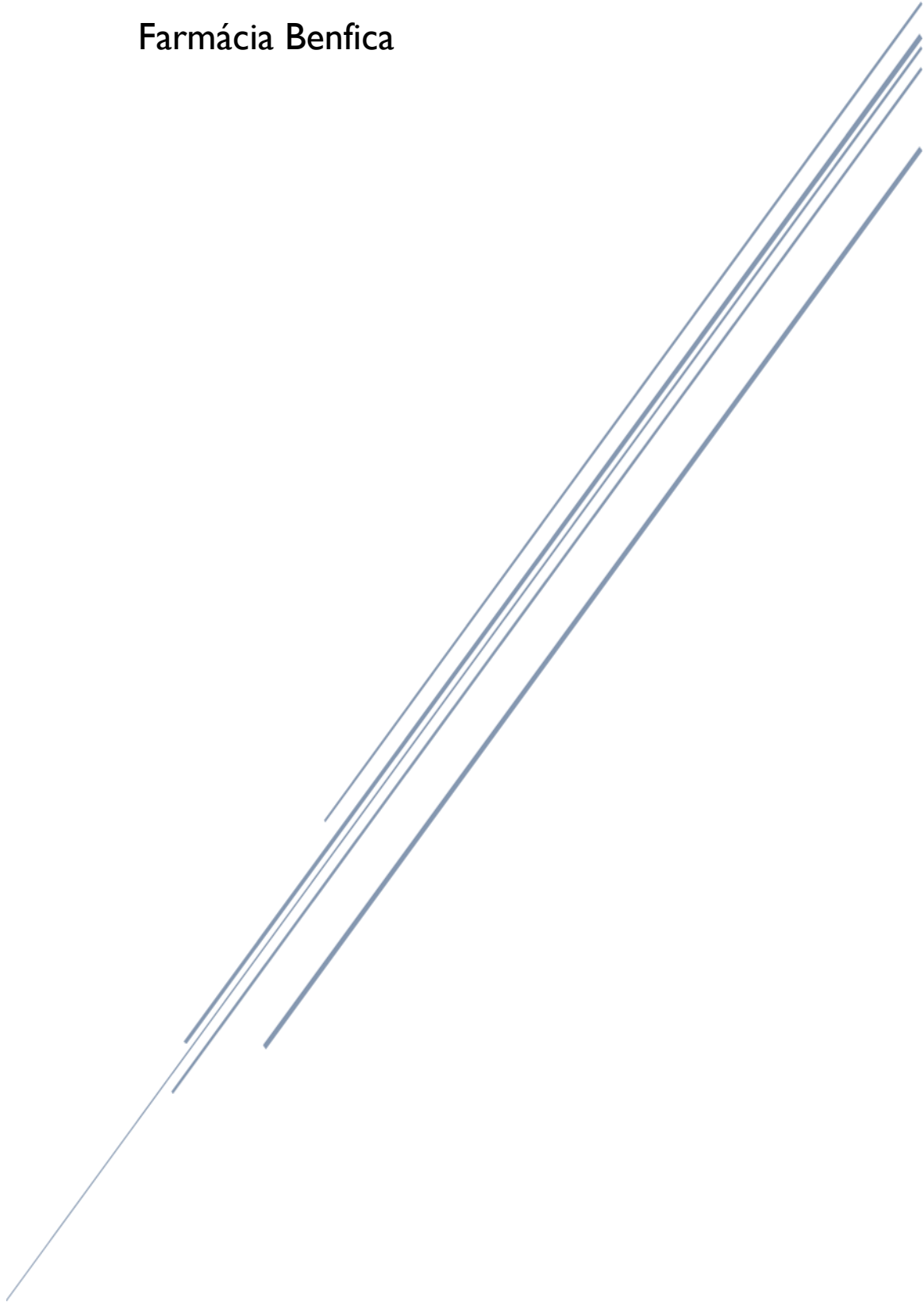
The generation of insulin-producing cells from stem cells and the findings of new β -cell sources are currently the most promising strategies for replacement and restoration of the β -cell population in patients with diabetes.

Despite all the progress made over the years, several obstacles still need to be overcome to make these treatments consensual, such as the risk of imminent immunogenicity and the need to resort to immunosuppressive therapies.

Key-words: Diabetes; Cell Therapy; Stem Cells; Immunogenicity

CAPÍTULO I – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

Farmácia Benfica



Capítulo I – Relatório de Estágio Farmácia Comunitária

I. Introdução

De acordo com o plano curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, está contemplado um estágio curricular em Farmácia Comunitária de carácter obrigatório, o qual oferece ao aluno a sua primeira experiência no contexto profissional, na medida em que se torna o culminar de 5 anos de estudos e que dá a oportunidade ao aluno de aplicar, no âmbito da Farmácia Comunitária, os conhecimentos teórico-práticos obtidos durante o curso.

Aliado ao facto de ser um primeiro contacto com o mercado de trabalho, este estágio ganha extrema importância por ser a primeira vez que o aluno interage com os seus futuros colegas de profissão e também com o utente em si.

É imperativo reconhecer as mais variadas funções do farmacêutico como agente promotor da saúde, o que na Farmácia se traduz não só na dispensa de medicamentos, mas também no aconselhamento e acompanhamento da terapêutica e na prestação de serviços de saúde onde se incluem medições de diversos parâmetros, tal como a glicémia, colesterol total, pressão arterial, entre outras.

Neste relatório pretende-se realizar uma análise SWOT de forma a avaliar os Pontos Fortes (*Strengths*), Pontos Fracos (*Weaknesses*), Oportunidades (*Opportunities*) e Ameaças (*Threats*) que foram surgindo durante a realização do estágio, os quais serão expostos de forma crítica nesta análise.

A farmácia onde realizei o meu estágio curricular situa-se em Benfica, na cidade de Lisboa, e é uma das farmácias mais antigas da zona, tendo aberto portas há mais de 60 anos, e faz parte de um grupo de farmácias que engloba cerca de 50 farmácias, a Rede Claro. Ainda se insere num grupo mais restrito composto por 5 farmácias, 3 em Lisboa e as restantes duas no Algarve. A equipa é constituída por 7 colaboradores, dos quais 5 são farmacêuticos e 2 técnicos de farmácia e a direção técnica está a cargo da Dr^a Maria do Carmo Galvão.

O seu horário de funcionamento de Segunda a Sexta é das 9:00 às 20:00 horas e ao Sábado das 9:00 às 19:00 horas, realizando também serviço permanente aproximadamente de 2 em 2 meses.

Trata-se de uma farmácia com dimensões ajustadas ao seu “estatuto” de farmácia familiar, no entanto muito bem organizada de modo a aproveitar ao máximo o pouco espaço das instalações. Além da sala de atendimento e venda ao público, dispõe de um gabinete de serviço

ao utente, um *backoffice*, sala de receção de encomendas e arrumação de expositores em não utilização, local de receção e arrumação de encomendas e medicamentos, um espaço adequado à preparação de manipulados e, por fim, uma casa de banho. Quanto à disposição da farmácia em relação aos produtos, esta pode ser dividida em dois espaços: o espaço exterior e o interior. O exterior refere-se à sala de atendimento ao público, onde estão expostas nos lineares várias marcas de dermocosmética e também de suplementação desportiva, dividindo-se em produtos para mulher, incluindo higiene íntima, para homem e bebé. Além disso, existe um linear direcionado para a higiene oral e atrás dos balcões encontram-se os medicamentos de venda livre. Por sua vez, o espaço interno é segmentado em medicamentos genéricos, expostos em prateleiras de acordo com o seu laboratório de origem, medicamentos de marca arrumados em gavetas, outras formas farmacêuticas tal como pomadas e loções externas, e, por fim, um lugar destinado à reposição de *stock*.

2. Análise SWOT

2.1. Pontos fortes

2.1.1. Acolhimento

No primeiro dia fui recebido e apresentado à equipa que estava presente naquela altura e às instalações da farmácia. Recebi também um manual de acolhimento, que continha a história e enquadramento geral da farmácia, bem como da sua inserção num grupo de farmácias, a Rede Claro, e também num grupo mais restrito de 5 farmácias, a WeDoTalent. Deste modo, fiquei mais facilmente integrado na equipa, assim como foi possível perceber como a farmácia se encontrava organizada. Por fim, foi-me apresentado o modo como a farmácia se encontrava dividida, nomeadamente a gestão e apresentação dos produtos e medicamentos consoante marcas ou laboratórios, tanto no espaço de atendimento como no espaço interior da farmácia.

2.1.2. Estrutura do plano de estágio

Relativamente ao plano de estágio, foi notável a preocupação da parte da minha orientadora em expor como se iria desenvolver o meu estágio na farmácia e o cumprimento de todas as etapas propostas, de uma forma sequencial. Estas incluíam *back-office*, receituário, gestão de lineares e montra, medição dos parâmetros bioquímicos, revisão da medicação e acompanhamento farmacoterapêutico e, por fim, atendimento ao público.

2.1.2.1. Back-office

Contactei primeiramente com o *back-office*, onde se lida com questões relacionadas com a gestão da farmácia, quer seja de medicamentos ou do economato. Durante esta primeira etapa percebi como se realizava a gestão de *stock* dos medicamentos segundo critérios como sazonalidade ou quantidade de vendas mensais. Durante este período de tempo também aprendi a conferir e rececionar encomendas, utilizando o programa informático SIFARMA 2000® e, além disso, a organizar e arrumar os produtos segundo a regra FIFO, de forma a vender primeiro os produtos que estivessem há mais tempo na farmácia ou com validade inferior. Isto ajudou-me bastante a perceber cada vez melhor a organização da farmácia, quais eram os fornecedores principais, ter uma ideia do volume de encomendas e a ganhar autonomia no processo de receção de encomendas. As encomendas diárias eram realizadas por volta da mesma hora a dois fornecedores - a Alliance, que era o fornecedor principal, e a Botelho, que servia como “*backup*” no caso de algum produto estar com falta de *stock* no fornecedor principal. A observação da realização destas encomendas ajudou-me a perceber como se processava a proposta de encomenda automática por parte do SIFARMA 2000®, de acordo com os *stocks* mínimos e máximos, e a seguinte verificação por parte de um colaborador.

Para além das encomendas, outro aspeto importante do *BackOffice* é o processamento das devoluções, também realizadas no SIFARMA 2000®, tanto de embalagens danificadas como de produtos rececionados que não tinham sido encomendados ou encomendados em quantidades erradas, assim como de produtos fora ou próximos do prazo de validade. A gestão dos produtos com curto prazo de validade era efetuada retirando listagens mensalmente de produtos com menos de 1 mês de validade, com o auxílio do SIFARMA 2000®. Desta forma, realizava-se uma contagem física de modo a recolher esses produtos para serem devolvidos. Por outro lado, as contagens físicas também tinham o objetivo de apurar erros de *stock* e podiam ser realizadas quer de forma aleatória, extraindo uma lista de 100 produtos e a partir daí verificar se existe uma percentagem significativa de erros de *stock*, quer de forma a confirmar erros de *stock* já detetados e registados numa folha destinada a esse propósito, a qual se encontrava à vista de todos os colaboradores. A realização destas contagens físicas ajudou-me bastante numa fase inicial para me familiarizar com os produtos disponíveis, bem como na sua distribuição pelo espaço da farmácia.

2.1.2.2. Receituário

A etapa que se seguiu foi relativa ao receituário e à sua conferência e correção. O seu objetivo é detetar erros presentes nas receitas utilizadas na dispensa de MSRM, e incluem-se a troca dos medicamentos dispensados em relação ao que foi prescrito, quer seja troca do medicamento em si, dosagem, forma farmacêutica ou até a quantidade, a validade da receita, ausência da assinatura do médico ou do número do SNS do utente, utilização de um plano de comparticipação errado ou mesmo até a não indicação no SIFARMA 2000® das exceções à prescrição por DCI (portaria nº224-A/2013) ou dos despachos relativos a comparticipações especiais. Este processo inicia-se com a separação das receitas por subsistema após cada atendimento, as quais são arquivadas no fim do dia, separadamente, num dossiê de forma a facilitar a conferência que será feita posteriormente. No final de cada mês as receitas são organizadas em lotes de 30, devidamente identificadas e sequenciadas, sendo emitidos os verbetes de identificação de cada lote e enviados para o CCF, no caso de pertencerem ao SNS, e para a ANF, no caso de corresponderem a outros organismos.

Este processo revelou-se de grande importância na minha aprendizagem, pois ajudou-me a detetar mais facilmente erros na receita aquando do atendimento e, assim, prevenir devoluções por parte dos organismos responsáveis pela comparticipação, embora no início não tenha sido fácil descobrir esses erros, visto ser preciso muita atenção a alguns detalhes na receita.

2.1.2.3. Gabinete de apoio ao utente

O gabinete de apoio ao utente na farmácia Benfica destina-se à prestação de serviços tais como a medição e avaliação de parâmetros bioquímicos, incluindo a pressão arterial, colesterol total, HDL e LDL, triglicéridos, glicémia, e também consultas de cessação tabágica, de nutrição (realizada por uma nutricionista em dias definidos e com marcação prévia) e, com menos frequência, realização de testes de gravidez. Para além disso, também poderá servir para situações ocasionais como observação de feridas, tratamentos de socorro primário, medições necessárias para a compra de meias de compressão ou administração de injetáveis. É, portanto, um espaço com o objetivo de tornar o atendimento mais personalizado e privado.

Ao início comecei por observar estes atendimentos para aprender os protocolos de realização das variadas medições, mas também para melhorar a comunicação farmacêutico-utente nestas situações, incluindo a parte da avaliação dos valores obtidos. A grande maioria das medições

realizadas por mim foram as da pressão arterial, em que dispunha de um tensiómetro digital e um manual, sendo que o preferido dos utentes era o manual, visto que era o mais “clássico”. Outra das medições mais frequentes era a da glicémia, mais frequente na primeira hora de funcionamento da farmácia, devido aos utentes já estarem informados da importância deste teste ser realizado em jejum.

Além da realização dos testes em si, considerei muito importante a parte da comunicação com o utente, de forma a explicar os valores obtidos e aconselhar medidas não-farmacológicas e, tratando-se do caso, de promoção de adesão à terapêutica.

2.1.2.4. Atendimento ao público

O atendimento ao público é um ato de extrema importância e responsabilidade no âmbito da farmácia comunitária, e sendo assim, só faz sentido iniciá-lo, como estagiário, no final de todas as etapas anteriormente descritas, visto que, para realizar um bom serviço de atendimento, é preciso que tudo o que foi apreendido durante a fase inicial do estágio seja posto em prática em prol do utente. Aliás, sendo a dispensa do medicamento o último contacto que o utente tem com um profissional de saúde antes de começar a terapêutica, é essencial que o atendimento não seja apenas o ato de dispensar o medicamento, mas também um momento de grande atenção e preocupação para com o utente, e que haja espaço para, se necessário, aconselhar o utente nas mais diversas situações.

A minha experiência começou pela observação, ao balcão, dos atendimentos realizados pelos outros colaboradores, o que me ajudou a perceber todos os passos essenciais para um bom serviço ao utente, desde as saudações iniciais ao cuidado personalizado e aconselhamento prestado, sendo tudo isto muito importante para a experiência do utente. Para além disto, esta observação serviu também para me integrar mais no SIFARMA 2000® relativamente à parte dos atendimentos e todos os procedimentos inerentes a este, visto que este era o meu primeiro contacto com o balcão. Durante este tempo, a cada atendimento um colaborador explicava-me as funcionalidades do SIFARMA 2000® que eram utilizadas e a possibilidade de consultar a informação científica disponibilizada pelo sistema para cada medicamento, de forma a facilitar o atendimento, assim como as indicações terapêuticas, reações adversas, interações, posologia, entre outras.

Alguns dos meus maiores receios eram a interação com os utentes, a incerteza da minha capacidade em transmitir-lhes o que achava que seria necessário na altura e, principalmente a,

minha capacidade de resposta às questões que me seriam colocadas. No entanto, após começar a realizar atendimentos com supervisão e ajuda de um colaborador, e eventualmente sozinho, fui ganhando confiança e a interação com os utentes foi-se tornando mais fácil. Esta etapa do estágio é a mais exigente pois tem que haver constante melhoramento e aprendizagem para melhorar não só a experiência do utente, como também a nossa maneira de estar nos atendimentos e, no meu caso, as técnicas de comunicação e aconselhamento.

2.1.3. Serviço de dispensa semanal

Na farmácia Benfica existe um serviço adicional prestado aos utentes que o assim desejarem, que consiste na preparação, realizada por um colaborador à sexta-feira, e dispensa de toda a medicação do doente em causa e que será posteriormente entregue ao próprio ou a um familiar/ajudante. A medicação é preparada consoante as receitas prescritas, com base nas indicações médicas nelas presentes, e colocada numa caixa destinada para este propósito, devidamente dividida pelos dias da semana e também pelas diferentes alturas do dia em que deve ser tomada a medicação. Após a medicação ser corretamente dividida pelos espaços na caixa, todo o processo é duplamente verificado por outro colaborador, de maneira a dissipar erros e assim garantir a toma correta dos medicamentos. Este serviço é gratuito e é particularmente útil para pessoas com mobilidade reduzida que não se consigam deslocar regularmente à farmácia, ou para pessoas que tenham dificuldades em perceber as indicações do médico ou que tenham problemas em distinguir medicamentos ou caixas de medicamentos. Outra vantagem deste serviço está relacionada com a revisão constante da medicação e acompanhamento farmacoterapêutico, que assim está assegurado semanalmente e que se prende também com a possibilidade de o colaborador responsável poder avisar o doente ou o seu responsável da aproximação do fim da validade da receita ou da necessidade de nova prescrição. Atualmente, na farmácia Benfica, este serviço é prestado a qualquer doente que, sendo incapaz de se deslocar, tem um familiar como responsável na obtenção dos medicamentos junto da farmácia.

2.1.4. Sazonalidade

Tendo realizado o estágio de Janeiro até final de Abril, o tipo de medicamentos e produtos mais procurados nunca foram sempre os mesmos, havendo mudança consoante a altura do ano. No início notei uma clara tendência para os medicamentos antigripais e antitússicos, pois, sendo Inverno, havia uma maior ocorrência de constipações e gripes. Também é de realçar que os utentes pediam muitas vezes a opinião do farmacêutico sobre este assunto e

perguntavam qual o medicamento certo e até o que deveriam fazer além dos medicamentos, ou seja, medidas não farmacológicas. Por esta razão, foi possível desenvolver competências de aconselhamento nesta área.

Na parte final do estágio começou a haver prevalência dos antialérgicos, descongestionantes nasais, repelentes e também protetores, mudando um pouco a tendência relativamente aos meses de Janeiro e Fevereiro.

Dito isto, penso que foi vantajoso o facto de as tendências de consumo terem sido alteradas consoante a altura do ano, pois deu-me a oportunidade de expandir os meus conhecimentos e prática em diferentes áreas e tornar-me um pouco mais polivalente em relação ao tipo de aconselhamento prestado.

2.1.5. Localização

A farmácia Benfica situa-se na estrada de Benfica, ponto de passagem obrigatório para todos os residentes no seu dia-a-dia, sendo a “artéria” principal da freguesia. Por esta razão, está estabelecida numa área de intenso comércio, vizinha do mercado de Benfica e da Igreja da Nossa Senhora do Amparo de Benfica, o que representa uma grande vantagem. Tratando-se de uma farmácia de carácter familiar, a maioria dos utentes são habituais e bem conhecidos pela equipa, enquanto os clientes de passagem representam uma pequena fração do total.

A principal vantagem de ter uma grande quantidade de clientes habituais é a confiança recíproca e a proximidade entre farmacêutico e utente, resultando numa melhor experiência para ambas as partes e maior facilidade em prestar um bom atendimento, sendo este prestado de forma mais calma, permitindo um maior acompanhamento personalizado.

2.2. Pontos fracos

2.2.1. Inexperiência

Tal como foi referido anteriormente, um dos meus maiores receios era a iniciação nos atendimentos, justificado pela minha inexperiência e insegurança ao princípio. Uma das lacunas principais foi os nomes comerciais dos medicamentos, que não são muito explorados no plano curricular do MICF, ao invés dos princípios ativos. Outra insegurança aquando dos atendimentos foi a minha capacidade de resposta às dúvidas dos utentes, nomeadamente no que diz respeito a aconselhamento sobre a escolha de algum MNSRM ou outro produto de dermofarmácia ou cosmética, e em dúvidas de indicações terapêuticas ou posologia quando um utente me apresentava uma receita sem estas características.

Para contornar estes obstáculos, durante o atendimento era frequente consultar as informações técnico-científicas do medicamento em causa, de forma a tirar qualquer dúvida que tivesse, e recorri muitas vezes à equipa, expondo as minhas dúvidas mesmo quando não me encontrava em atendimento, de forma a maximizar o meu tempo na farmácia e a estar cada vez mais preparado. Para isso, nos “tempos mortos” pedia para me darem uma rápida explicação sobre um certo tipo de produtos em que tinha tido dúvidas num atendimento anterior. Apesar deste facto, senti que o conhecimento adquirido no MICF sobre produtos de dermofarmácia, cosmética, ou até mesmo dispositivos médicos é insuficiente para pôr em prática na farmácia comunitária, visto que existe uma grande procura destes produtos.

Ao longo do tempo, com a ajuda da equipa, fui adquirindo noções sobre cada tipo de produtos que me eram pedidos, suficientes para ter capacidade de resposta imediata às questões que os utentes me colocavam, tornando mais eficiente o atendimento, adaptando este para cada tipo de situação ou doente, e ganhando confiança no momento do aconselhamento de forma a ser o mais claro possível com o utente.

2.2.2. Desconfiança em relação ao estagiário

Um dos pontos fortes apresentados incluía a forte fidelização dos clientes e a grande percentagem de clientes habituais. Porém, isso pode também ser um ponto fraco para a minha experiência como estagiário. Isto pode acontecer quando estes clientes apresentam alguma desconfiança em mim, sendo estagiário e tendo pouca experiência, e preferem ser atendidos por um farmacêutico que já conhecem e vice-versa.

Esta situação, apesar de ter acontecido poucas vezes, afetou o meu estágio pois não é fácil ganhar a confiança de um cliente habitual quando se é novo na equipa, o que resultava muitas vezes em impaciência por parte dos utentes. Esta impaciência por vezes não me possibilitava colocar questões que seriam pertinentes para o atendimento, colocando o utente em risco.

2.2.3. Manipulados

Estando presente tanto no plano curricular do MICF como no plano de estágio curricular, a preparação de medicamentos manipulados apresenta-se como uma ferramenta de personalização de terapêutica de cada doente, sendo ajustada à sua condição quer na posologia, composição ou forma farmacêutica. Na farmácia Benfica existe um espaço próprio destinado a esta prática, com todo o equipamento necessário para responder às necessidades,

assim como o suporte bibliográfico de auxílio à preparação destes medicamentos, nomeadamente o Formulário Galénico Português e a Farmacopeia Portuguesa.

No entanto, devido ao crescimento da Indústria Farmacêutica e a uma cada vez maior oferta de medicamentos no mercado, esta competência dos farmacêuticos é progressivamente menos aproveitada, não justificando a existência de um espaço destinado à preparação de manipulados em todas as farmácias.

Durante o meu tempo de estágio tive a oportunidade de preparar apenas um manipulado, uma pomada salicilada 20% (m/m). A pomada foi preparada de acordo com as boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados, segundo indicações compendiais da bibliografia disponível, e com o correto preenchimento da ficha de preparação de manipulados.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Formações internas e externas

Na área da saúde é extremamente importante o profissional manter-se a par do progresso científico e adotar uma postura de constante aprendizagem e atualização dos seus conhecimentos. Por parte dos farmacêuticos é essencial estar informado sobre novas terapêuticas, medicamentos novos mas também aprofundar conhecimentos sobre os que já se encontram no mercado. As formações, externas ou internas à farmácia, constituem uma ferramenta de aprendizagem para os profissionais de saúde, e no meu caso foram bastante importantes para preencher algumas lacunas, nomeadamente na área da dermofarmácia e suplementação alimentar.

Durante o período do estágio tive oportunidade de assistir a várias formações internas, realizadas no interior da farmácia, marcadas pelo laboratório em causa, em que delegados visitavam a farmácia com o propósito de anunciar novos produtos ou reforçar e atualizar o conhecimento da equipa sobre os produtos disponíveis na farmácia. Tive também a oportunidade de estar presente em formações externas, a maioria das quais de marcas associadas à dermofarmácia, tais como a PierreFabre, LaRochePosay e os laboratórios Expanscience.

Sendo a área da dermofarmácia e cosmética a área em que me sentia menos à vontade durante o aconselhamento, considereei estas formações uma mais-valia para expandir e aprofundar o meu conhecimento sobre este tipo de produtos.

2.3.2. Sistema Kaizen

O sistema *Kaizen*, ou “melhoria” em japonês, consiste na implementação de processos que visam a melhoria contínua de uma empresa ou instituição, na qual se pode enquadrar a farmácia. O principal objetivo deste sistema é realçar a importância da organização e delimitação de tarefas no aumento da produtividade e rentabilidade.

Na farmácia Benfica este sistema foi implementado com a criação de um espaço onde estão afixados:

- O mapa de reuniões *Kaizen*, correspondendo a cada dia da semana certos tópicos a abordar relativos ao funcionamento da farmácia;
- Um plano PDCA (*plan, do, check, act*) com tarefas divididas por todos os colaboradores;
- Um quadro com métricas de análise a vários parâmetros que necessitem de monitorização, como por exemplo a percentagem de preenchimento dos dados do utente nos atendimentos;
- Um quadro que é atualizado com a entrada em vigor, ou saída, de campanhas promocionais, facilitando a visualização e consulta das mesmas;
- Uma tabela *Sprint* onde se inclui os produtos de cada categoria terapêutica com maior quota na farmácia e os objetivos a cumprir mensalmente, atualizada semanalmente de acordo com as vendas obtidas.

2.3.3. Integração num grupo de farmácias

A integração num grupo de farmácias é, a meu ver, uma oportunidade, na medida em que oferece um maior poder negocial junto dos fornecedores e junto das marcas no caso de encomendas diretas. Além disto, oferece a possibilidade de, em caso de falta de *stock*, pedir às restantes farmácias o produto em falta, podendo diminuir o tempo de espera do utente se esse produto se encontrar em rutura de *stock* ou indisponível junto do fornecedor.

No que diz respeito ao meu estágio, este ponto foi benéfico porque me deu a oportunidade de contactar com outras realidades, passando alguns dias em duas farmácias do grupo, com dimensões maiores e público-alvo diferente daquele com que contactei na farmácia Benfica.

2.4. Ameaças

2.4.1. Ruturas de stock

Durante o meu período de estágio foi muito frequente a ocorrência de ruturas de stock de muitos medicamentos, situação alheia à farmácia pelo facto de estarem esgotados a nível nacional. Este ponto é importante pois trata-se de uma inconveniência tanto para o farmacêutico como para o doente, e, por vezes, a farmácia é injustamente culpabilizada, facto reforçado pelo descontentamento e impaciência do utente no atendimento. É por isso fulcral o farmacêutico nestas situações tentar todas as soluções disponíveis junto do utente, tal como confirmar a indisponibilidade do medicamento nos fornecedores ou noutras farmácias, tendo a certeza que o utente percebe que tudo está a ser feito para contrariar este imprevisto. Se se tratar de uma receita médica e a indisponibilidade do medicamento esteja confirmada, o próximo passo a tomar pelo farmacêutico será reencaminhar o utente ao médico para ser prescrita uma receita diferente, sempre explicando a situação ao utente e assegurando a sua compreensão.

Em situações que podem ser contornadas com a escolha de outro produto que sirva de alternativa, como pode acontecer nos MNSRM, o farmacêutico poderá apresentar soluções que possam substituir a medicação indisponível, de forma a garantir que o utente continue com a sua medicação.

2.4.2. Concorrência e venda de MNSRM fora das farmácias

Este ponto de ameaça está indiretamente ligado também à localização da farmácia, pois esta encontra-se numa zona com um elevado número de farmácias e também de uma loja Well's. É, portanto, frequente os utentes irem à farmácia que estiver mais perto, sendo que assim torna-se muito importante cativar e fidelizar os clientes, de forma a eliminar este pensamento. Por outro lado, a diferença de preços entre as farmácias e loja Well's é significativa visto este estabelecimento fazer parte de um conglomerado.

O facto de estas lojas terem permissão para vender MNSRM, além de produtos de dermofarmácia, puericultura, entre outros, resulta num desvio de clientes para estas, deixando para as farmácias apenas a dispensa de MSR, o que era visível muitas vezes e justificado com a diferença de preços pelos utentes.

Dito isto, tem de ser prioridade para os farmacêuticos clarificar a distinção entre o serviço prestado numa farmácia e numa destas lojas, melhorando a qualidade do aconselhamento e atendimento.

2.4.3. Prática insuficiente

A dificuldade mais notória que senti durante o período de estágio foi a falta de conhecimentos práticos durante o MICF. Sendo um curso predominantemente teórico, parece insuficiente apenas a realização de um estágio no final do último ano, em que é o único momento de aplicação dos conhecimentos teóricos obtidos num contexto profissional. Uma solução para este problema seria a realização de estágios durante o MICF, se possível em várias áreas do setor farmacêutico.

3. Conclusão

O estágio curricular na Farmácia Benfica foi o culminar de 5 anos de aprendizagem que me permitiram pôr em prática os conhecimentos adquiridos e contactar pela primeira vez com a realidade profissional.

Na farmácia Benfica tive a sorte de integrar uma equipa de extraordinários profissionais, que me acolheram de uma forma saudável desde o início e me ajudaram a transformar um sentimento inicial de insegurança em confiança, o que facilitou a minha evolução tanto pessoal, como profissional.

Como nota final, nunca é demais reconhecer a importância que o farmacêutico tem na sociedade atual e na responsabilidade que esta profissão acarreta, representando-se não só na dispensa de medicamentos, mas principalmente na interação com os utentes, no aconselhamento em todas as vertentes da farmácia e, por fim, na prestação de serviços.

Termino o estágio levando comigo uma experiência gratificante, uma sensação de enriquecimento a nível pessoal e profissional e com motivação crescente para ingressar no mercado de trabalho como farmacêutico.

CAPÍTULO 2 – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA HOSPITALAR

Hospital da Luz de Lisboa



Capítulo 2 – Relatório de Estágio Farmácia Hospitalar

1. Introdução

De acordo com o plano curricular do MICE, tive a oportunidade de escolher realizar um estágio em Farmácia Hospitalar, no Hospital da Luz de Lisboa, de 2 de Maio a 29 de Junho de 2018, sob orientação do Dr. Rui Rodrigues, com o objetivo de contactar com uma nova realidade além da Farmácia Comunitária e com o intuito de aplicar os conhecimentos obtidos no MICE, especialmente no contexto hospitalar.

O relatório que se segue apresenta uma clara e sucinta descrição dos Serviços Farmacêuticos do Hospital da Luz, tal como a sua gestão, organização e processos de funcionamento. Neste relatório estão ainda descritas todas as secções com as quais tive oportunidade de contactar, incluindo uma análise SWOT com o propósito de, retrospectivamente, avaliar a minha experiência durante o período de estágio.

2. Hospital da Luz de Lisboa

Inaugurado em 2007, o Hospital da Luz de Lisboa é uma instituição privada, integrante do grupo Luz Saúde. O seu complexo de saúde é constituído por dois edifícios principais, os serviços hospitalares de agudos e as Casas da Cidade, que funcionam como um hospital residencial. Neste complexo estão ao alcance do doente todas as competências médicas e cirúrgicas para uma abordagem completa e integrada, fundamental para a qualidade dos cuidados de saúde prestados.

Recentemente, o HL passou a ser acreditado pela *Joint Commission International*, um organismo responsável por um certificado de qualidade prestigioso e que, juntamente com a excelente equipa de médicos, farmacêuticos, técnicos e os demais colaboradores, renova o compromisso da procura constante de um melhor serviço ao cliente/doente e a prática de uma medicina de excelência e inovação.

3. Serviços Farmacêuticos do Hospital da Luz

A Farmácia Hospitalar, segundo o Manual de Boas Práticas de Farmácia Hospitalar, é “um serviço de saúde, que compreende todas as atividades inerentes à seleção, preparação, armazenamento, manipulação e distribuição de medicamentos e produtos de saúde, assim como o aconselhamento aos utentes e aos outros profissionais de saúde sobre o uso seguro, eficaz e eficiente de medicamentos e produtos de saúde”. No Hospital da Luz, os SF estão assentes em três pilares fundamentais para o seu funcionamento, sendo eles os cuidados

farmacêuticos orientados para o doente, a educação e formação de estagiários e a investigação clínica.

Os farmacêuticos participam em todas as etapas do circuito do medicamento, nomeadamente nos processos de seleção, aquisição, preparação e distribuição dos medicamentos. Têm a missão de garantir a qualidade inerente à produção e os melhores resultados terapêuticos, nunca pondo em causa a segurança dos doentes.

3.1. Instalações

De acordo com a JCI, a acreditação obtida obriga ao cumprimento de certas normas e procedimentos no que diz respeito ao controlo de humidade, temperatura, segurança e outros parâmetros que estejam diretamente relacionados com as instalações dos SF. Este controlo torna-se essencial nas zonas em que o acesso está limitado aos farmacêuticos e técnicos de farmácia responsáveis pelas mesmas, tais como a sala de armazenamento de estupefacientes, a zona de produção de citotóxicos (CFLV), nutrição parentérica (CFLH) e de fórmulas magistrais, a sala de armazenamento de medicamentos destinados a conservação em frigorífico e, por fim, a sala de armazenamento de inflamáveis.

Além destas zonas de maior controlo, os SF são ainda constituídos por salas de trabalho destinadas aos farmacêuticos, o gabinete da Direção Farmacêutica, uma zona de distribuição, uma zona de receção de medicamentos e administrativa, a sala de reembalagem e um vestiário.

3.2. Gestão de medicamentos

A gestão e aprovisionamento de todos os produtos farmacêuticos no contexto hospitalar é uma área fulcral dos SF, sendo que engloba todos os processos de seleção, aquisição, receção e armazenamento.

O HL tem a particularidade, visto ser um hospital privado, de enquadrar os processos de seleção e aquisição com uma central de negociação, adaptando a partir do Formulário Hospitalar Nacional do Medicamento o seu próprio formulário interno.

A seleção de medicamentos é realizada tendo em conta critérios fármaco-económicos e a sua relação com a melhoria da qualidade de vida dos doentes, fatores que são considerados em comissões constituídas por equipas multidisciplinares.

De modo a obter um processo de aquisição mais eficaz e racional, deve ser considerada a previsão das necessidades, baseada em dados estatísticos, de forma a evitar excessos ou falta de *stock*. Outro critério preponderante é a classificação dos medicamentos num sistema ABC:

- A – Constituem 20% do total dos produtos adquiridos, no entanto ocupam 80% do orçamento, o que leva a um maior controlo de *stock*, e são adquiridos mensalmente;
- B – Constituem 15% do total dos produtos e 15% do orçamento, são adquiridos de 2 em 2 meses;
- C – Controlo menos rigoroso, compras realizadas semestralmente, representam a maioria dos produtos, cerca de 65%, e apenas 5% do orçamento.

Após o processo de seleção e aquisição segue-se a receção das encomendas. Na zona de receção realizam-se todos os processos de receção e conferência dos produtos encomendados, sendo posteriormente armazenados consoante as suas características. A maior parte dos produtos são armazenados no sistema automático KARDEX, exceto os produtos que não apresentem dimensões adequadas ao armazenamento neste sistema. Outras exceções dizem respeito a medicamentos incluídos em circuitos especiais, como é o caso dos estupefacientes ou psicotrópicos, armazenados numa sala específica com acesso limitado aos farmacêuticos responsáveis, e os medicamentos com condições de temperatura especiais de armazenamento, numa sala com os respetivos frigoríficos.

3.3. Distribuição

Os SF são responsáveis por dirigir toda a medicação para os respetivos serviços que a requisitaram, assegurando o cumprimento das prescrições médicas, após validação, e das necessidades das variadas áreas do hospital.

A distribuição pode ser assegurada por reposição de *stock*, por distribuição individual diária em dose unitária, ou por requisição urgente de medicamentos.

Em 1992 foi publicado em Diário da República um despacho que torna obrigatória a implementação e aplicação do sistema de Distribuição Individual Diária em Dose Unitária, que consiste em preparar e distribuir, em concordância com a prescrição médica, a medicação de um determinado doente para um período de 24 horas. Antes da distribuição, todas as prescrições médicas são conferidas e validadas pelos farmacêuticos, que asseguram que nelas estão prescritos os medicamentos corretos para a situação em causa, tal como a forma

farmacêutica, dosagem, posologia e a via de administração. Apenas depois do farmacêutico aprovar e validar as prescrições, a medicação é então preparada, atribuindo um carro de distribuição a cada serviço, e cada gaveta a um doente do respetivo serviço. Após a distribuição correta da medicação pelas diferentes gavetas, os carros de distribuição seguem então para os seus correspondentes serviços.

A distribuição por reposição de *stock* pode ser feita uma a duas vezes por semana, consoante as necessidades específicas do serviço em causa, sendo que a quantidade requisitada é calculada com recurso a médias anuais de consumo. Estas requisições são realizadas pelos enfermeiros do serviço, posteriormente validados pelos farmacêuticos.

As requisições urgentes de medicação são realizadas por via *e-mail*, através de um documento uniformizado no qual devem estar preenchidos os campos obrigatórios, nomeadamente a identificação do enfermeiro ou médico, a identificação do doente, a medicação requisitada e a justificação. Antes de ser enviada a medicação, terá que ser validada pelo farmacêutico.

3.3.1. Distribuição de Medicamentos Sujeitos a Legislação Especial

Em situações em que são prescritas substâncias que, com utilização indevida, possam dar origem a abuso de medicamento, toxicod dependência, e que precisem de especial precaução, a distribuição é realizada de acordo com legislação específica. É o caso dos estupefacientes e psicotrópicos e dos hemoderivados, que por sua vez estão integrados num circuito especial de medicamentos.

3.3.1.1. Estupefacientes e Psicotrópicos

No caso dos estupefacientes e psicotrópicos, devido ao risco de uso ilícito e dependência destas substâncias, estão armazenados numa sala própria, com acesso restrito, e estão regulados por legislação própria.

Aquando da administração destes medicamentos, o enfermeiro regista num impresso específico todas as informações necessárias, referentes a administrações de um só fármaco a um ou mais doentes. Este impresso é enviado para os SF onde são registadas as saídas do medicamento em causa, para efeitos de atualização de *stock*.

A dispensa destes medicamentos é realizada pelo farmacêutico responsável, após validação e verificação dos processos e da requisição, e são transportados por um técnico ou um auxiliar de ação médica, num saco devidamente identificado com a indicação “psicotrópico” e com o

nome do serviço a que é destinado. No momento da receção, o impresso deverá ser assinado e datado pelo enfermeiro responsável pela receção.

3.3.1.2. Hemoderivados

Os medicamentos derivados do sangue ou plasma humano, mais conhecidos por hemoderivados, também estão incluídos num circuito especial.

Quando são rececionados, deve ser sempre conferido o número do Certificado de Autorização de Utilização de Lote, como é imposto pela legislação nacional, e a sua prescrição é realizada num documento próprio. Este documento é o Modelo nº1804, impresso pela Casa da Moeda, que contém 2 vias, a via Farmácia e a via Serviço. O farmacêutico tem, então, de verificar o correto preenchimento de todos os campos obrigatórios deste modelo. Se estiver tudo conforme é realizada a dispensa exclusivamente por parte do farmacêutico responsável.

3.4. Farmacotecnia

Nos SF o sector de farmacotecnia está dividido fisicamente em 3 zonas:

- Zona de preparação e manipulação de citotóxicos;
- Zona de preparação de Nutrição Parentérica (NP);
- Zona de preparação de medicamentos manipulados.

Além destas zonas referidas ainda existe uma sala destinada à reembalagem, sendo que todos estes espaços estão devidamente equipados e são utilizados consoante normas de qualidade e segurança relativas à preparação de formulações farmacêuticas.

3.4.1. Preparação e Manipulação de Citotóxicos

Nesta área dos SF, são produzidos, de acordo com uma planificação diária, todos os medicamentos citotóxicos constituintes de tratamentos realizados em doentes oncológicos no Hospital de Dia Médico.

Nesta zona está presente um farmacêutico responsável por verificar as prescrições que são introduzidas no programa informático ONCOFARM. Neste programa o farmacêutico tem a possibilidade de validar e dispensar, e consultar os protocolos relacionados com o tratamento em causa, de acordo com as *guidelines* existentes, de forma a facilitar o processo de verificação. Na base da validação está a verificação do doente e as suas características, o ciclo da quimioterapia presente, resultados de exames, cálculo e ajustes de doses. Se estiver tudo conforme com a prescrição, o farmacêutico valida-a e prossegue para a impressão dos rótulos

identificativos e preparação do tabuleiro com todos os materiais necessários para a preparação do citotóxico, que irá ser enviado para a Câmara de Fluxo Laminar Vertical (CFLV).

Na CFLV é efetuada a preparação dos medicamentos citotóxicos e, por esta razão, devido às propriedades destes fármacos, é fundamental cumprir todos os procedimentos de higienização, de forma a garantir a segurança tanto do doente como do operador. Após a preparação do fármaco, o farmacêutico é responsável por verificar a correta rotulagem e acondicionamento, e registar o número de lote e validade de todos os produtos utilizados no processo. De seguida, o citotóxico é enviado para o HDM para ser administrado ao doente.

3.4.2. Nutrição Parentérica

Tal como na preparação e manipulação de citotóxicos, a preparação de misturas para nutrição parentérica destinadas a recém-nascidos também implica protocolos que promovam técnicas assépticas, salvaguardando a segurança do recetor e a qualidade da mistura. A câmara utilizada neste processo é a Câmara de Fluxo Laminar Horizontal (CFLH), sendo que esta apenas permite a proteção da preparação e não a do operador.

Antes da preparação da mistura, o farmacêutico responsável deve verificar e confirmar a identificação do recém-nascido, principalmente o peso, visto que é fundamental para cálculos de ajuste de dose. Após esta verificação e posterior validação, a mistura é preparada, registando-se sempre os lotes e validade, guardada em bolsas ou seringas e transportada para o respetivo serviço.

3.4.3. Preparação de Não-Estéreis

Ao contrário dos processos descritos anteriormente, a preparação de formas farmacêuticas não-estéreis não necessita de condições assépticas, e estes são produzidos com o intuito de representar alternativa às formas farmacêuticas ou dosagens disponíveis, quando estas não são compatíveis ou eficazes num doente em específico.

No início do processo é elaborado um protocolo de preparação do manipulado, verificado pelo farmacêutico responsável. Após a preparação deve existir sempre um controlo de qualidade e confirmação da rotulagem com a identificação do doente e do preparado.

3.4.4. Reembalagem

Outra área importante para o funcionamento dos SF situa-se na sala de reembalagem. Este processo é utilizado sempre que um certo medicamento não tenha visível na embalagem principal o nome do princípio ativo, a dose ou a data de validade. Desta forma, aquando da

reembalagem, são impressos rótulos com a identificação dos SF e todas as informações pertinentes, necessárias para a correta identificação do medicamento, tais como o nome do princípio ativo, dose, validade, número de lote e um número sequencial do processo de reembalagem.

A reembalagem procede-se retirando o comprimido do blister original para uma embalagem com um rótulo identificativo, logo é expectável que a validade fique reduzida. Por esta razão, considera-se que a validade dos comprimidos reembalados seja de um ano após a reembalagem, enquanto nos casos em que seja necessário fracionar os comprimidos, a sua validade passa a ser de apenas seis meses após reembalagem.

3.5. Ensaio Clínico

Os ensaios clínicos são outra área de ação dos SF do Hospital da Luz, com o intuito de avaliar a terapêutica, num ou mais indivíduos, com recurso a um ou mais medicamentos experimentais, e identificar efeitos farmacológicos, farmacodinâmicos e clínicos, bem como os efeitos adversos. Trata-se assim de uma ferramenta de investigação a medicamentos experimentais no que diz respeito à segurança e eficácia.

O EC é realizado após acordo entre uma entidade externa, mediante apresentação do seu medicamento, e um médico especialista da área a que se destina o produto. Seguindo-se o acordo, o médico recruta doentes, criando uma população-alvo adequada para o EC conforme as patologias apresentadas e as indicações clínicas do medicamento a ser investigado. Assim que ambas as partes concordem com os termos da realização do EC, nomeadamente a apresentação e explicação do tratamento e possíveis efeitos indesejáveis aos doentes, existe permissão para iniciar o ensaio.

Durante o EC ocorrem visitas de monitorização, com o objetivo de perceber eventuais problemas com o tratamento, avaliar a *compliance* do doente e analisar os resultados obtidos por comparação aos resultados esperados. No término do EC, todos os dados obtidos são incluídos numa avaliação, de forma a gerar uma conclusão final, abordando as questões essenciais relativas à segurança e eficácia do EC realizado.

3.6. Farmácia de Ambulatório

Com vista ao cumprimento do plano de estágio curricular, era importante contactar com esta vertente da FH e, para este efeito, tive a oportunidade de estar alguns dias no Hospital Beatriz Ângelo.

A farmácia em regime ambulatorio nos SF hospitalares é fundamental no processo de dispensa de medicamentos que não possam ser dispensados nas farmácias comunitárias, como é o caso dos medicamentos de dispensa exclusiva em farmácias hospitalares. Além disso, assegura uma constante vigilância e monitorização das terapêuticas instituídas.

Os medicamentos dispensados neste serviço são dirigidos para várias patologias, entre elas o VIH, Esclerose Lateral Amiotrófica ou Múltipla, Doença de Crohn, Hepatite C, tuberculose, entre outras. O farmacêutico é responsável, além da dispensa, pela consulta farmacêutica com os doentes, crucial para avaliar a adesão à terapêutica e seus efeitos, mas também problemas relacionados com o tratamento e perceber os motivos. Desta forma existe espaço para esclarecimento de dúvidas que os doentes possam ter. Estas consultas visam acompanhar e recolher informações junto do doente para que possa haver uma maior adesão à terapêutica, e consequente eficácia e segurança no decorrer do tratamento.

3.7. Validação

A validação é uma tarefa realizada pelos farmacêuticos dos SF com extrema importância e que, por isso, acarreta uma enorme responsabilidade. As prescrições médicas correspondentes a cada serviço realizadas ao longo do dia têm que ser validadas pelos farmacêuticos, anteriormente à administração dos fármacos prescritos. O farmacêutico tem, então, a função de verificar se os fármacos prescritos são adequados ao doente em causa, em relação tanto ao fármaco em si, como à posologia, dose, e atentar à duplicação da terapêutica. Para este efeito, o farmacêutico recorre ao processo clínico do doente, recolhendo todas as informações que possam ser pertinentes para a decisão a tomar, bem como a literatura científica que poderá auxiliar durante a validação.

Em caso de haver motivo para interrupção de algum medicamento, ajuste de dose, principalmente na pediatria, ou outra qualquer questão que o farmacêutico considere relevante, o médico ou enfermeiro responsável poderá ser contactado, por chamada, via *e-mail* ou pelo sistema informático interno, de forma a esclarecer estas questões ou intervir na terapêutica. Quando as prescrições são validadas, as indicações são dirigidas para a sala de distribuição e a dispensa é realizada pelos técnicos e a medicação segue para os respetivos serviços.

4. Análise SWOT

4.1. Pontos fortes

4.1.1. Equipa de trabalho

A integração nesta equipa foi bastante fácil e fui sempre bem acompanhado durante o estágio, o que me ajudou na realização de tarefas e aprendizagem ao longo do tempo. Além de representarem uma excelente equipa de profissionais, senti um enorme cuidado ao nível do ensino, mostrando sempre preocupação na transmissão de conhecimentos e na resposta às dúvidas colocadas.

4.1.2. Bibliografia fornecida

Ao longo do período de estágio foi-me disponibilizada literatura científica, tais como *guidelines* e artigos, bastante úteis para o assunto que iria abordar, facilitando o processo de aprendizagem e orientação.

4.1.3. Infraestruturas

O Hospital da Luz é reconhecido pelas suas excelentes condições e modernidade presente nas suas infraestruturas. Fundado há cerca de 11 anos, continua em constante evolução e renovação, aliado à existência das Casas da Cidade, oferece um grande nível de conforto aos doentes e residentes. Além disso, existe uma grande preocupação em ter presentes equipamentos técnicos *state-of-the-art*, de forma a proporcionar um tratamento e cuidado o melhor possível.

4.1.4. Plano de estágio

Durante o período de estágio tive a oportunidade de contactar com várias vertentes dos SF, o que se revelou muito importante para perceber melhor as funções e tarefas dos farmacêuticos no contexto da FH. Iniciei o meu percurso no setor de receção e armazenamento de encomendas, seguido pelo circuito especial de medicamentos, principalmente estupefacientes, psicotrópicos e hemoderivados. Após esta parte inicial comecei a contactar mais com a vertente da validação dos vários serviços do HL, tais como pediatria, medicina interna, unidade de cuidados intensivos e, finalmente, cuidados continuados e paliativos, intercalando com o setor da produção (CFLV e CFLH) e a ida ao Hospital Beatriz Ângelo para observar a dispensa de medicamentos em regime ambulatorio. Para além disto,

pude observar também as tarefas mais direcionadas aos TF, tais como a reembalagem e a distribuição individual diária de medicamentos em dose unitária.

4.1.5. Comunicação entre serviços

No HL a rápida e eficiente comunicação entre os diferentes serviços, incluindo os SF, revela-se como uma grande vantagem, traduzida numa célere resposta aos problemas que ocorrem diariamente, resultando numa minimização de erros e constante troca de informações por todo o hospital.

4.1.6. Sistemas Informáticos

Nos SF os farmacêuticos utilizam principalmente o sistema informático SOARIAN e o ONCOFARM (no setor da produção de citotóxicos). Estes sistemas integram e interligam informações, processos clínicos e prescrições pelos vários serviços, auxiliando os farmacêuticos na toma de decisões no âmbito da validação e, no caso do ONCOFARM, na avaliação de tratamentos oncológicos e preparação e manipulação de citotóxicos. Estes sistemas revelam-se, portanto, uma ferramenta essencial com vista a uma melhor comunicação e aumento de eficácia no tratamento dos doentes.

4.2. Pontos fracos

4.2.1. Duração do estágio

O estágio em FH está limitado a um período de 2 meses, visto ser obrigatório o mínimo de 4 meses cumpridos em Farmácia Comunitária. É notoriamente insuficiente de forma a aprofundar conhecimentos sobre os mais variados setores em que os SF atuam. Apesar do plano de estágio definido permitir contactar com todos os setores, o tempo era limitado e apenas passei alguns dias em cada um.

4.2.2. Inexperiência e plano de estudos do MICF

Neste estágio senti muita dificuldade ao início em adaptar os conhecimentos adquiridos ao longo do MICF ao contexto hospitalar, muito devido à inexistência de experiência neste setor. Os conhecimentos obtidos, principalmente na área curricular de Farmácia Hospitalar, são insuficientes, especialmente considerando o setor da produção e validação.

4.2.3. Sistemas informáticos

Embora tenha apresentado os sistemas informáticos nos pontos fortes, também os considero nos pontos fracos devido à sua desatualização. São sistemas que, embora funcionais, não são

atualizados há bastante tempo e apresentam algumas falhas, como a existência de poucas funcionalidades que permitam a uniformidade de processos, como por exemplo no preenchimento de campos de informação nos processos clínicos, o que pode resultar em erros de interpretação ou de escrita.

4.3. Oportunidades

4.3.1. Realização de um trabalho final de estágio

Durante este período foi sugerida, a mim e aos restantes estagiários, a realização de um trabalho a ser apresentado na última semana do estágio. O tema do trabalho era uma proposta de implementação relativa a “Standard MMU.5.1: Medication prescriptions or orders are reviewed for appropriateness”, presente nas exigências da JCI. A proposta tinha o objetivo de encontrar uma alternativa que permitisse aos SF responder às necessidades existentes durante o período de tempo em que estes serviços se encontram encerrados, como por exemplo durante a noite. As situações consideradas obrigatórias pela JCI e que têm de ter resposta a qualquer hora do dia pelos SF são: potencial toxicidade de órgãos, alergias, interações medicamentosas letais e ajuste de dose.

A realização deste trabalho revelou-se desafiante mas ao mesmo tempo enriquecedora, permitiu expandir os nossos conhecimentos em contexto hospitalar e conhecer um pouco melhor as exigências definidas pela JCI para a acreditação do HL.

4.3.2. Visitas Clínicas

Ao longo do estágio tive a oportunidade de realizar, acompanhado pelo farmacêutico responsável, visitas médicas a alguns serviços, tais como o serviço de Medicina Interna, Cuidados Continuados e Paliativos e a Unidade de Cuidados Intensivos. Além disso, presenciei uma reunião de equipa multidisciplinar no âmbito dos Cuidados Paliativos.

Estas experiências permitiram-me contactar com vários profissionais de saúde e ganhar uma melhor perceção do trabalho que os farmacêuticos realizam fora dos SF.

4.3.3. Ida ao Bloco Operatório

Na última semana do estágio foi-me oferecida a oportunidade de poder visitar o Bloco Operatório e observar uma cirurgia, uma colecistectomia por via laparoscópica. Além da observação, estava acompanhado por uma anestesiolegista que me ajudou a perceber a

medicação administrada antes e durante o procedimento cirúrgico. O facto de ser uma experiência que provavelmente não será repetida tornou-a extremamente enriquecedora.

4.4. Ameaças

4.4.1. Carreira de Farmacêutico Hospitalar

A carreira farmacêutica no contexto hospitalar é caracterizada pela sua dificuldade no que diz respeito ao acesso. Recentemente houve progressos com a aprovação do novo regime profissional do farmacêutico hospitalar, no entanto ainda se sente pouco reconhecimento acerca da profissão, diminuindo a importância do papel do farmacêutico no contexto hospitalar.

5. **Considerações finais**

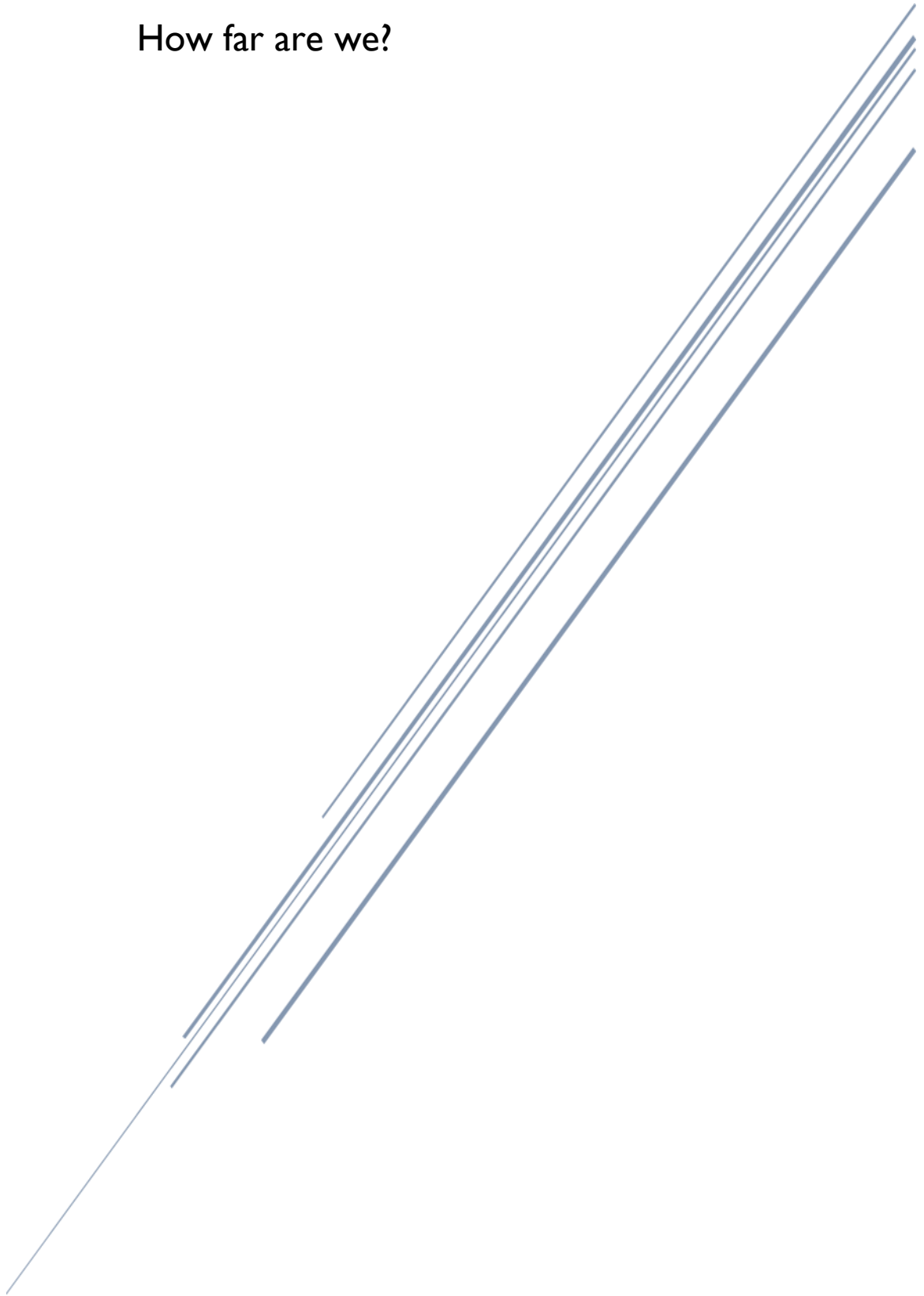
A realização deste estágio permitiu-me conhecer novas realidades, muito diferentes em relação à Farmácia Comunitária, e perceber melhor a integração do Farmacêutico Hospitalar em equipas multidisciplinares e quais as suas funções.

A oportunidade de poder contactar com os vários setores dos SF revelou-se um aspeto muito importante no meu processo de aprendizagem, pois expandiu bastante os meus conhecimentos em contexto hospitalar nas várias vertentes apresentadas. Além disso, o trabalho realizado com os estagiários foi uma mais-valia a nível pessoal e uma experiência enriquecedora de trabalho de equipa.

Em jeito de conclusão, este estágio foi bastante importante na minha progressão tanto no âmbito profissional como pessoal, aproveitando ao máximo o reduzido tempo disponível para aplicar e desenvolver conhecimentos, terminando o estágio com novas percepções acerca da carreira de Farmacêutico Hospitalar.

CAPÍTULO 3 – CELLULAR THERAPY AND DIABETES

How far are we?



Capítulo 3 – Cellular Therapy and Diabetes. How far are we?

I. Introduction

Diabetes is a group of metabolic diseases characterized by hyperglycemia resulting from defects in insulin secretion, insulin action, or both. The chronic hyperglycemia of diabetes is associated with long-term damage, dysfunction, and failure of different organs, especially the eyes, kidneys, nerves, heart and blood vessels. (American Diabetes Association, 2010)

Prevalence of diabetes is increasing in Europe, already reaching proportions of 10-12% of the population in some countries. This upsurge is strongly associated with growing trends concerning overweight and obesity, bad diets, lack of physical activity and socioeconomic disadvantage. 10.3% of men and 9.6% of women aged 25 years and over are diagnosed with diabetes, corresponding to about 60 million people just in Europe. Globally, high blood glucose kills about 3.4 million people annually. Almost 80% of these deaths occur in low- and middle-income countries, and almost half are people aged under 70 years. WHO projects diabetes deaths will double between 2005 and 2030 (WHO/Europe, 2008). In Portugal, the tendency is not better, following Europe's diabetes incidence rate tendency, reaching 10.7% and 7.8% in males and females accordingly, as it can be seen in Figure I.

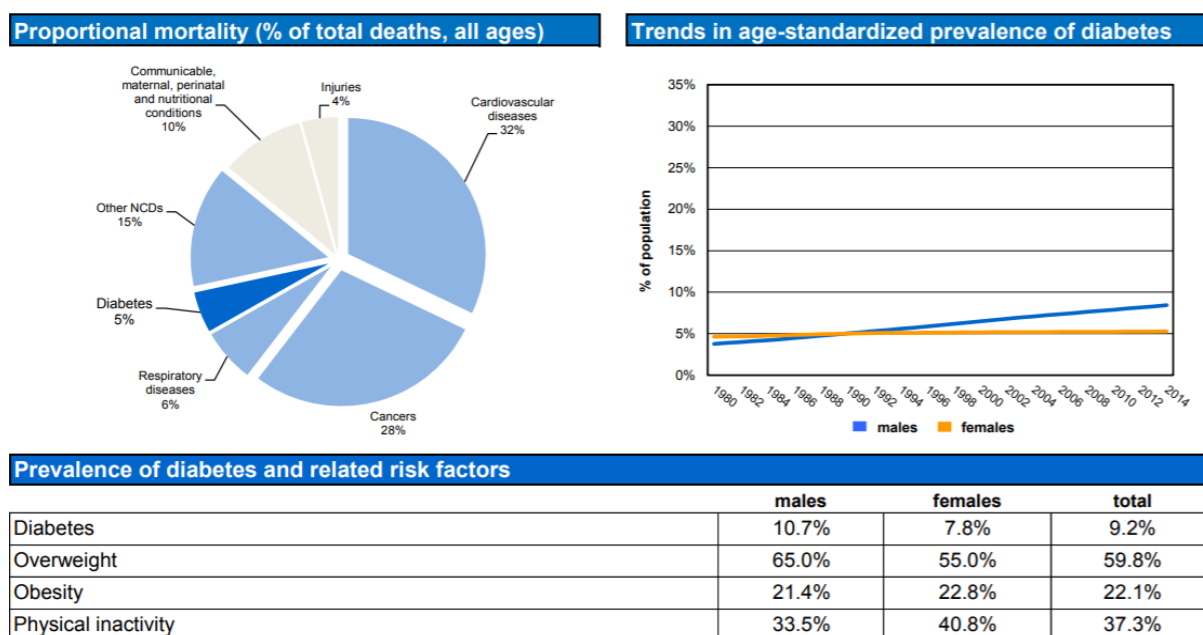


Figure I – Diabetes country profile – Portugal. (World Health Organization, 2016).

Diabetes can be divided into two major types. T1D is an autoimmune disorder that leads to β -cell destruction, driven by the body's immune system. On the other hand, T2D is a condition

identified by both insulin resistance and progressive loss of function of insulin producing β -cells.

Since it was discovered, insulin has been the object of studies, although many breakthroughs have been made towards new ways of treating and preventing diabetes. The most important improvement was the cloning and sequencing of the insulin gene, which allowed an easier way of controlling blood glucose levels, due to the introduction of unlimited supplies of bacterially expressed human insulin and the technology to modify the structure of the protein (Muir, K.R. *et al*, 2014).

Exogenous insulin administration has been leading the way diabetes is being controlled, and this has been best achieved by basal-bolus therapy, using multiple daily injections or continuous subcutaneous insulin infusion pumps (Cito, M. *et al*, 2018). However, although this line of treatment reduces morbidity and high blood sugar levels, it does not prevent long-term microvascular, neurologic, and macrovascular complications and severe hypoglycemia. In addition, there is a low patient treatment compliance, because it requires behavioral changes such as permanent glycemic control, which includes medication and testing blood sugar (Polonsky, K. S., 2012).

To this date, the cure for diabetes is yet to be found; therefore T1D patients require subcutaneous insulin injections to survive, while T2D is controlled with oral anti-hyperglycemic drugs and non-therapeutically measures. This is the reason why it is imperative to delineate strategies to provide new β -cell sources, thus increasing the population of functional β -cells. Some of the potential methods to accomplish this consist in replacing the β -cell mass via transplantation, increasing β -cell replication, reducing β -cell death, and developing new β -cells from suitable progenitor cells (Lipsett, M. *et al*, 2002).

The current therapy options for T1D include islet transplantation, combined with a proper immunosuppression therapy, which has been proven to lead to an exemplary blood sugar level control and improvement of chronic complications. On the other hand, the necessity of a long-term immunosuppression therapy remains one of the downsides of islet transplantation, alongside with the shortage of cadaveric donors and immunological graft failures (Muir, K.R. *et al*, 2014).

More recently, novel pathways are under investigation and are leading to the creation of new approaches using stem cells. This stem cell based therapy is believed to be capable of stopping the autoimmune response against β -cells and sustaining their replenishment. Embryonic stem

cells and induced pluripotent stem cells have been entitled as new potential candidates to attain this objective, mainly because of their differentiation capability and their boundless proliferating aptitude, while preserving an undifferentiated state (Lysy, P.A. *et al*, 2012; Corritore, E. *et al*, 2016).

2. Islet transplantation

T1D is characterized by β -cell destruction caused by an autoimmune process. These insulin-producing cells are located in the pancreatic islets, better known as islets of Langerhans. In addition, these islets also have in their structure alpha, delta, and PP cells, which secrete glucagon, somatostatin, and pancreatic polypeptide, correspondingly.

In order to replace destroyed β -cells and/or restore their function many approaches have been made towards this issue, including pancreas transplantation and pancreatic islets transplantation. However, islet transplantation has been considered as a far less onerous procedure as it is more financially viable, doesn't require major surgery, neither such high levels of immunosuppression to achieve β -cell replacement, as opposed to pancreas transplantation.

One of the most important breakthroughs concerning this issue was the invention of the Ricordi method, an automated method of islet isolation, developed in 1986. Since then, many allogenic islet transplantations were reported with some success, using conventional immunosuppression and purified human islets from cadaveric donors (Robertson, R.P., 2004), which meant that it could be possible to control T1D without insulin therapy. This procedure represents a viable option for patients with unstable T1D, due to improving metabolic control, normalization of glycemic levels and prevention of severe hypoglycemia. However, there are still many limitations to this type of procedure, such as the need for chronic immunosuppression and shortage of islets cadaveric donors.

The islet isolation method (Ricordi method) despite being a complex process can be schematically described as it can be seen in Figure 2. Pancreatic islets are isolated from the donor's pancreas via a mechanically-enhanced enzymatic digestion technique (collagenase) (Hogan, A. *et al*, 2008). The transplantation can be from a cadaveric donor (allo-transplantation) or from the patient's own pancreas (auto-transplantation). After this step comes the purification phase using density-gradient centrifugation, leading to the final mass of pancreatic digest that is going to be transplanted via portal vein infusion (Matsumoto, S. *et al*, 2007).

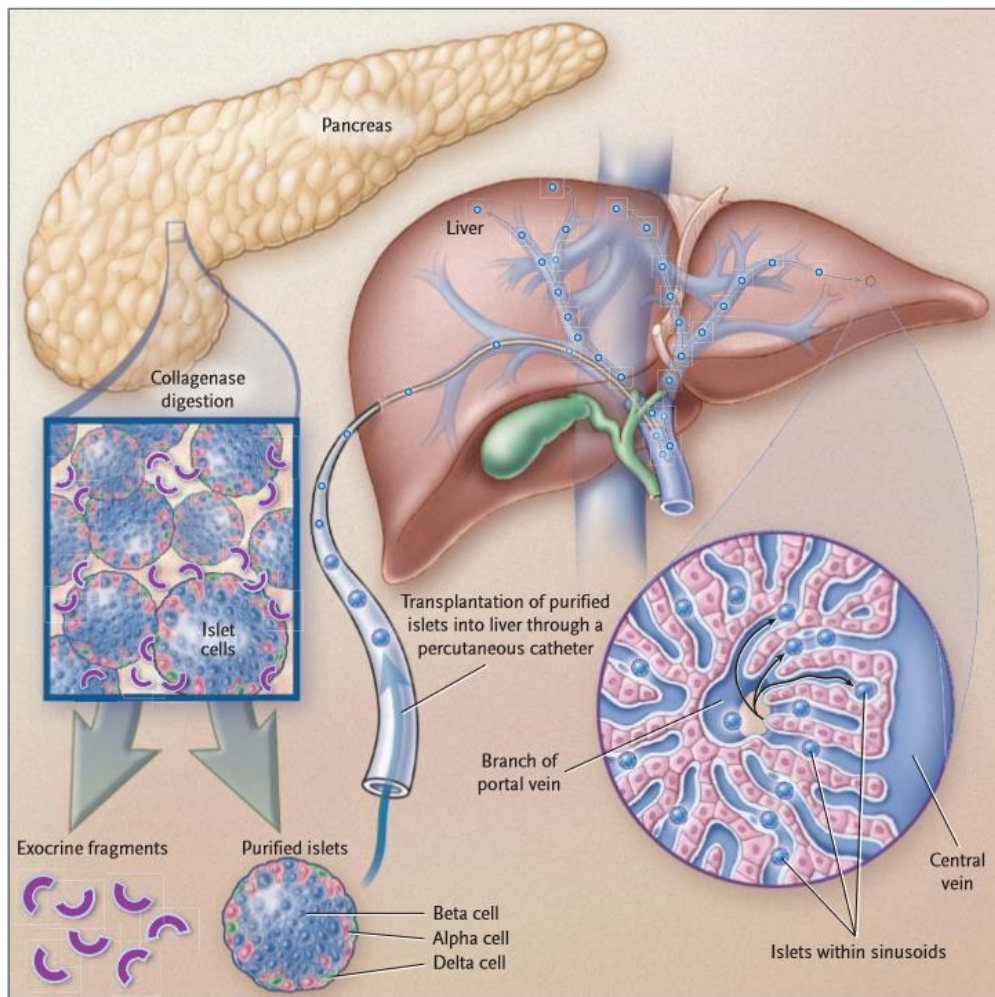


Figure 2 - The process of Islet Transplantation. A pancreas is obtained from a donor. The pancreas is digested with collagenase to free the islets from surrounding exocrine tissue. The freed islets, containing mostly beta and alpha cells, are purified by density-gradient centrifugation to remove the remaining exocrine cellular debris. The purified islets are infused into a catheter that has been placed percutaneously through the liver into the portal vein, whence they travel to the liver sinusoids. (Robertson, R. P. *et al*, 2004)

Although this procedure has been implemented more than 30 years ago, it still has critical issues needed to be addressed. Some of them concern the process itself, such as the need of standardized enzyme blends, the lack of methods to assess collagenase efficacy in islet isolation, the variable islet purification due to variable organ condition and the imprecise assessment of islet mass (Antonioli, B. *et al*, 2018). These factors lead to a very expensive and specialized procedure, notwithstanding the high demand and little supply of pancreata to meet the need. This can be improved by upgrading islet cultures and many molecules have been brought up to discussion, like anti-apoptotic molecules such as JNK inhibitor (Noguchi, H. *et al*, 2005) or p38 activator (Paraskevas, S. *et al*, 2001) or the addition of collagen type IV and VI, among others that were shown to favor tissue reparation after the isolation method (LLacua, L. A. *et*

al, 2018). Islet survival and function in the pre-transplantation phase can be improved by the use of growth factors (Anjum, M. S. *et al*, 2017).

The need for immunosuppression therapy is justified not only by the prevention of the rejection, but also the recurrence of autoimmunity (Antonioli, B. *et al*, 2018). It was first implemented in the late 90's with the introduction of the "Edmonton Protocol". This protocol was based on a steroid-free immunosuppression therapy that begins shortly before transplantation and consists in 5 biweekly doses of anti-IL-2 antibody (daclizumab), and is maintained by continuous administration of sirolimus (inhibits the response to IL-2) and tacrolimus (blocks IL-2 production). Other sources characterize the maintenance immunosuppression therapy as an association of tacrolimus and mycophenolate mofetil, among others. Insulin level decline and reduced insulin gene transcription have been associated with the administration of immunosuppressive drugs. These adverse effects have been reported by various authors, linking them to a specific therapy, including corticosteroids and steroid-free immunosuppression, as it can be observed in Table I.

Adverse Effect	Corticosteroids	Cyclosporine	Tacrolimus	Sirolimus	Mycophenolate Mofetil
Decreased insulin gene transcription		Oetjen <i>et al.</i>	Redmon <i>et al.</i> , Oetjen <i>et al.</i>		
Decreased level of stability of insulin messenger RNA	Philippe and Missotten				
Decreased insulin synthesis	Gold <i>et al.</i>	Chandrasekar and Murkherjee, Gillison <i>et al.</i>			
Decreased insulin synthesis in vitro	Davani <i>et al.</i> , Paty <i>et al.</i>	Robertson, Niehlsen <i>et al.</i> , Draznin <i>et al.</i> , Chandrasekar and Murkherjee, Gillison <i>et al.</i> , Philippe and Missotten, Ishizuka <i>et al.</i> , Paty <i>et al.</i>	Redmon <i>et al.</i> , Ishizuka <i>et al.</i> , Paty <i>et al.</i>	Fabian <i>et al.</i> , Paty <i>et al.</i>	Meredith <i>et al.</i> , Path <i>et al.</i>
Decreased insulin secretion in vivo	Billaudel and Sutter		Ricordi <i>et al.</i> , Strasser <i>et al.</i>		

Table I - Mechanisms of the Adverse Effects of Immunosuppressant Drugs on Beta Cells (Adapted from Robertson, R. P., 2004).

Edmonton protocol can restore long-term endogenous insulin production and protect from severe hypoglycemia, but that insulin independence is not sustainable, and graft function is lost in most patients after 5 years (Van Belle, T. *et al*, 2008). Antonioli *et al*, described the importance of the use of Belatecept as it maintained a high rate of insulin independence,

suggesting the loss of effect of the immunosuppression in the post-transplant phase. In 2000, Shapiro *et al*, reported 100 percent success in seven patients after the Edmonton Protocol was introduced, employing an optimized immunosuppressive regimen and islets infusions from various donors, enough to normalize glucose levels and achieve insulin independence (Antonioli, B. *et al*, 2018).

Another issue with regard to this procedure is the poor islet engraftment and long-term function loss. Less than 20% of transplants recipients remain exogenous insulin-independent after 3-5 years due to islet loss and poor engraftment. Islets transplanted in this manner are at major risk of loss from instant blood-mediated inflammatory reaction, an activation of the complement and coagulation cascades, during the injection procedure (Phelps, E. A. *et al*, 2013). This means that the islets induce and are exposed to inflammation, which causes the graft rejection and β -cell death in some cases. As engraftment failures ensue, the need for more than 1 cadaver donors arises. At least 2 or 3 donors and multiple infusions are necessary to ensure independent normoglycemia. In order to prevent this, several anti-inflammatory treatments have been moved to clinical trials, including approaches to promote local immunoprotection with Treg cells, CXCL12 or depletion of the leukocyte infiltration, but none of these were able to fulfill all the requirements for preventing β -cell loss in clinical trials (Antonioli, B. *et al*, 2018).

Concerning the loss of islets graft long-term function, new advances can emerge with the contribution of stem cells and their inductions in order to generate new β -cell mass through differentiation.

3. Alternative Sources of β Cells

Potential strategies for β -cell replacement can generally be categorized as *ex vivo* strategies, involving the generation of β -cells *in vitro* and their subsequent transplantation, or *in vivo* regeneration-type approaches (Baiu, D. *et al*, 2011). In the first one, cells from various sources are isolated or cultivated and then transplanted into the diabetic recipient. This approach can be exemplified with the use of human PSCs and their differentiation into pancreatic and endocrine progenitor cells, and then into mature β -cells capable of secreting insulin before being transplanted. These new β -cells can be generated from many cell types, such as liver cells, ductal cells, and acinar cells, among others. On the other hand, *in vivo* β -cell regeneration strategies include reprogramming adult cell types into functional β -cells by overexpressing pancreatic transcription factors.

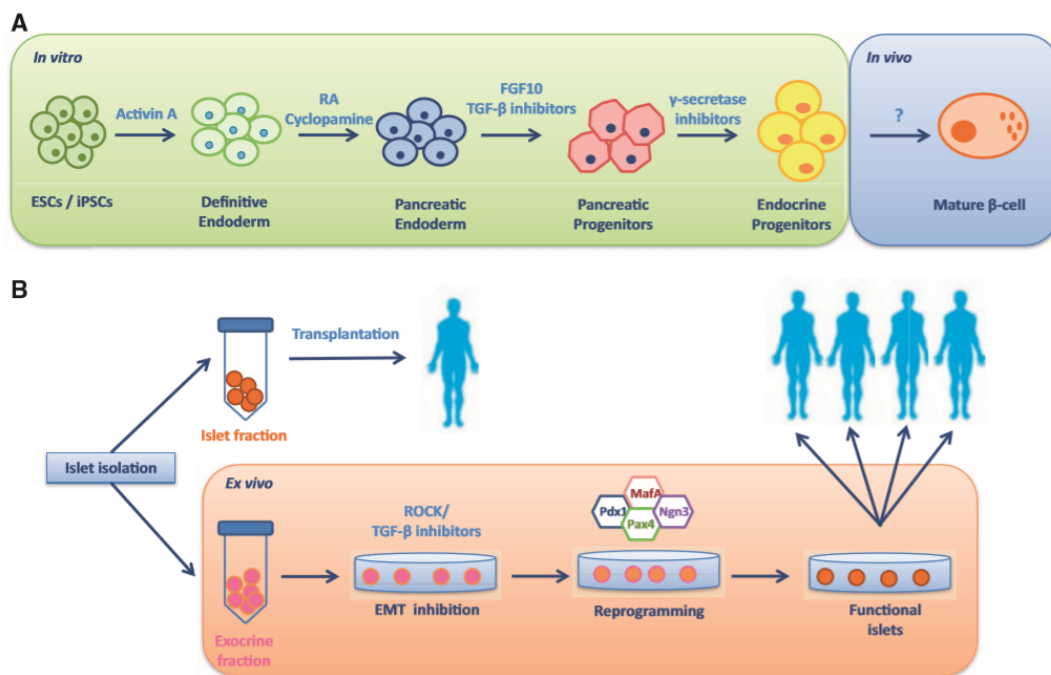


Figure 3 - Strategies for generating a replenishable supply of beta cells. (A) Schematic representation of the stepwise differentiation of pluripotent cells towards b-cells *in vitro*. The final maturation stages of beta cell development remain challenging to replicate under *in vitro* conditions. (B) Procedure for reprogramming the exocrine tissue resultant from the islet isolation procedure towards functional beta cells. After being placed in culture, the exocrine phenotype is maintained by inhibiting EMT. Reprogramming towards functional beta cells is subsequently achieved by overexpression of pancreatic transcription factors and growth factors. (Muir, K. R. et al, 2014)

4. Pluripotent Stem Cells

Pluripotent cells can be obtained from the inner cell mass of pre-implantation embryos (ESCs) or from the reprogramming of adult tissues to generate iPSCs (Muir, K. R. et al, 2014). The self-renewal potential of stem cells gives credit to the idea of converting ESCs and iPSCs into fully functional β -cells. iPSCs were first generated from mouse embryos and adult fibroblasts, following transduction with retroviruses containing four transcription factors - Oct4, Sox2, Klf4 and c-Myc -, that are normally expressed in ESCs (Takahashi, K. et al, 2006). This type of stem cells can differentiate into a large number of different cell types. This could end the issue concerning lack of supply of specific cell types with therapeutic potential for transplantation in patients with T1D. More recently, the breakthroughs regarding the possibility of reprogramming human somatic cells to iPSCs can provide support for *in vitro* derivation of an autologous therapeutic cell population (Bai, D. et al, 2011).

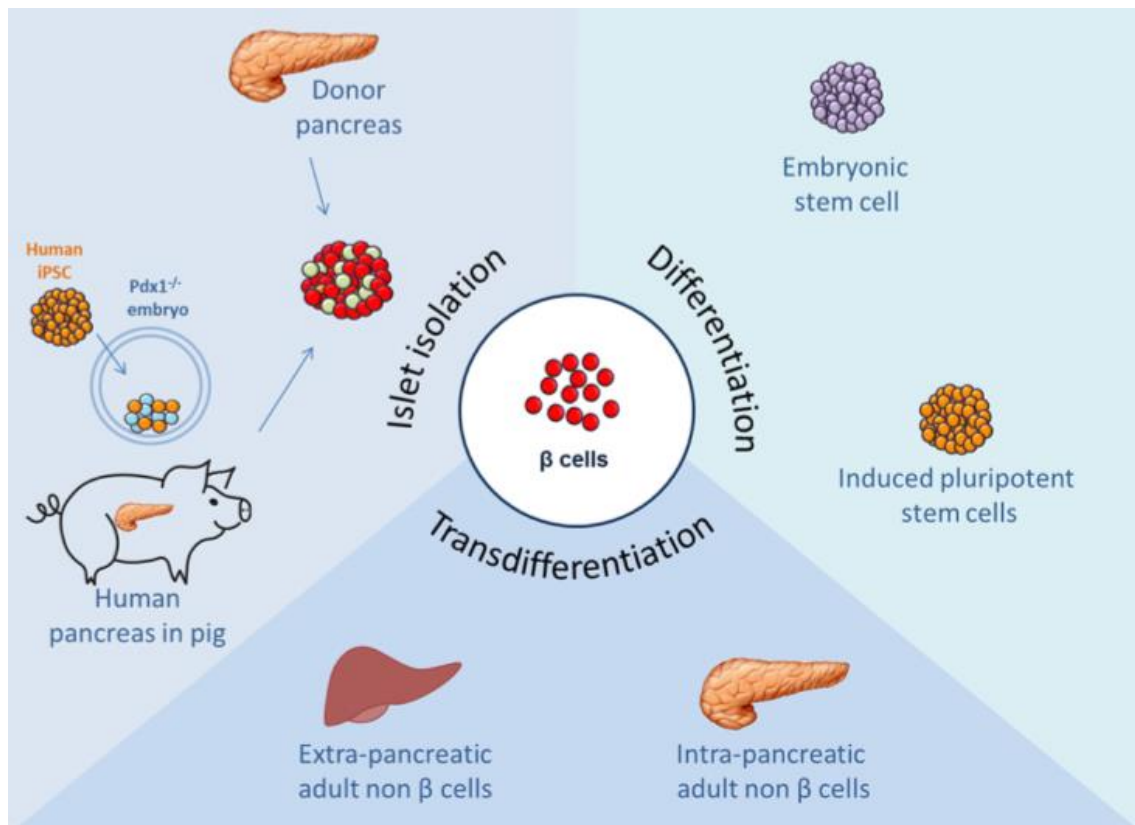


Figure 4 - Schematic representation of the most promising sources of pancreatic β cells. (Cito, M. *et al*, 2018)

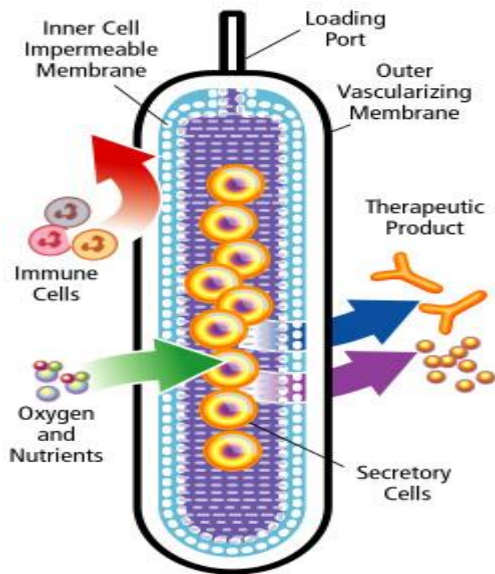
As it is known, each transplant requires massive quantities of differentiated cells, which would as well require a cell culture on industrial scale. Therefore, there is a case for generating a bank of pluripotent cells, which in a perfect scenario would match the range of MHC compatibility within regional or racial genetic backgrounds, selected on the basis of their growth, differentiation capabilities and HLA-type (Muir, K. R. *et al*, 2014). Despite the fact that the recipient does not share antibodies with the donor's HLA antigens, there is proof that HLA-matching would offer benefits from at least non-complete HLA-matching (Muir, K. R. *et al*, 2014). The generation of this pluripotent stem cell bank implies a ESCs lines screening, which may represent a risk to the donor and likely raise ethical questions, whilst iPSCs are capable of being generated through adult cell lines. Several iPSCs lines with MHC compatibility towards donors can be created and developed, and later filtered based on their growth characteristics and ability to differentiate down endoderm, mesoderm or ectodermal lineages (Muir, K. R. *et al*, 2014).

New protocols have been developed to improve a better differentiation efficiency of pluripotent stem cells into functional islets. Muir *et al* describes a strategy guided by new advances in understanding the mechanism that controls pancreatic development in the mouse. To begin with the first step, the primary objective is to stimulate the formation of definite

endoderm by adding in high concentrations (100ng/ml) of activin A in the culture media. Activin A is a protein complex, member of the transforming growth factor beta (TGF- β) family of proteins, produced by many cell types throughout development (Zorn, A. M. *et al*, 1999). Activin A maintains the undifferentiated state of human ESCs (James, D. *et al*, 2005; Xiao, L. *et al*, 2006) and also facilitates differentiation of human ESCs into definitive endoderm (D'Amour, K. A. *et al*, 2005). Secondly, after the first 2 days of step 1, comes the specification of the pancreas by adding retinoic acid and cyclopamine, which inhibits a signaling pathway that regulates growth and differentiation of embryonic cells, and so is required for adequate cell differentiation. After this, pancreatic cell types are formed by including fibroblast growth factor and inhibiting activin A mechanism, promoting hepatic specification. Finally, using a γ -secretase inhibitor in order to inhibit Delta/Notch signaling, the goal to produce endocrine progenitors is achieved. However, the challenge to turn these endocrine progenitor's cells into fully capable β -cells remains to be solved. Mature glucose responsive insulin-producing cells have only been achieved following transplantation of human ESC-derived pancreatic progenitor cells (Bruin, J. E. *et al*, 2013). Kroon *et al* reported in 2008 an investigation in which a similar protocol of the previous one was implemented, and evaluated the aptitude of human embryonic stem cell-derived pancreatic endoderm to generate functional endocrine cells. Direct engraftment of unpurified cells aggregates into immunodeficient mice resulted in the specification of glucose-responsive cells with insulin secretory properties, similar in kinetics and magnitude to similarly engrafted adult human islets (Kroon, E. *et al*, 2008). In this study, it was evidenced that post-transplant differentiation was perceived after 30 days. However, the highest levels of insulin secretion were only detected 3 months following the procedure.

During this research, almost every one of the implanted mice were able to secrete sufficient insulin levels to fully protect against STZ-induced hyperglycemia, and also secrete high levels of C-peptide during a glucose challenge in mice also treated with STZ. This study and the results presented are consistent with the prospect of generating mature and functional islets from stem cells. It is also stated that human ESC-derived endocrine cells are functionally comparable to adult human islets, and therefore giving credit to the idea that human ESC cells can be a new source of islets for diabetes cell renewal or replacement therapies.

In order to resolve the issue regarding progenitor cells maturation into functional β -cells, it is believed that the use of microencapsulation could be the key to solve it. An ideal diabetes stem cell therapy would incorporate an immuno-isolation barrier to protect engrafted cells from the host immune system, thus eliminating the need for immunosuppression (Bruin, J. E.



©Copyright TheraCyte, Inc. All rights reserved.

Figure 5 - The TheraCyte™ system.
Source: TheraCyte

et al, 2013). This barrier could be similar to encapsulating devices such as TheraCyte™, shown in Figure 5, where maturation of progenitor cells into β -cells would take place. This was shown to prevent allograft rejection in non-immunized and also immunized recipients, and therefore improving the safety of the whole procedure.

This means that the engrafted cells could be easily removed if adverse conditions arise. Bruin *et al* reported that encapsulation devices provided cell maturation *in vivo*, as well as a safe method for transplanting immature cells into diabetic recipients (Bruin, J. E. *et al*, 2013).

5. Transdifferentiation

Another approach towards generating a vaster and safer supply of β -cells was created around the prospect that any tissue or non- β mature cells could be reprogrammed into insulin-producing cells. The cells used for this purpose could be originated from the pancreas, liver or even from the gastrointestinal tract. This could solve some of the issues regarding past cell therapy strategies, such as the insufficient supply of islets or concerns on the topic of immunotolerance, as it would only require the use of reprogrammed cells from a single recipient to perform multiple grafts, since the bulk derived from the islet isolation could be used to generate new β -cells, according to this strategy. Another advantage concerns the “over the time” deterioration of grafts. With this new approach, the reprogrammed cells could be cryopreserved and made available as a recipient-specific top-up supply of islets (Muir, K. R. *et al*, 2014).

Figure 6 represents an overview of possible outcomes from transdifferentiation and β -cell development, listing transcription factors responsible for generating insulin positive β -cells out of pluripotent cells.

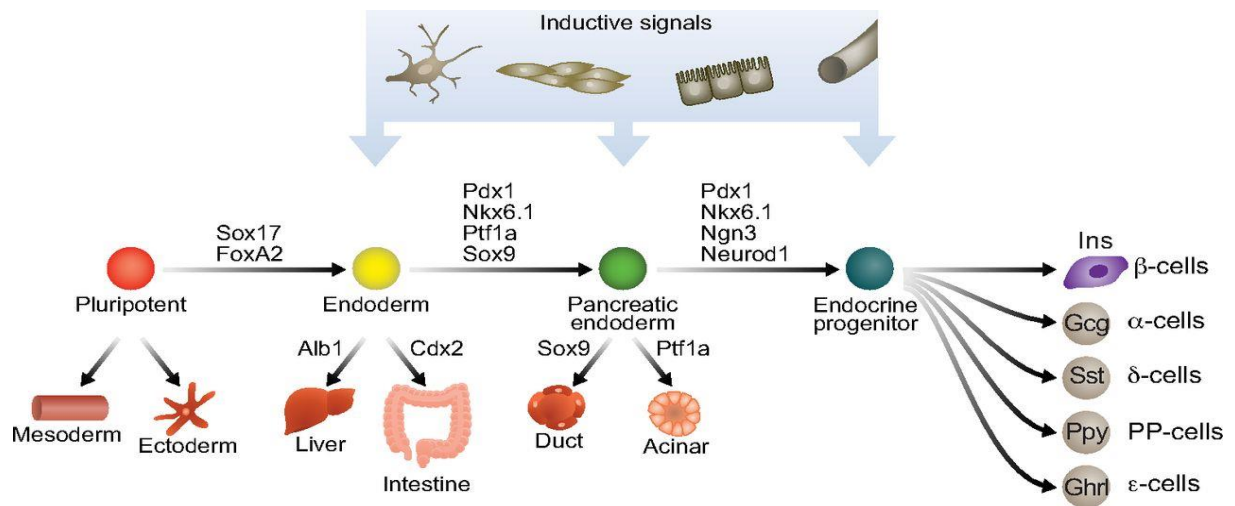


Figure 6 - An overview of fate choices during normal β -cell development. Pluripotent cells first acquire the identity of one of three germ layers; pancreatic cells arise from the endodermal layer. A subset of endoderm is specified by Pdx1 expression to become pancreatic endoderm, which will subsequently differentiate to a pancreatic ductal, acinar or endocrine fate. Endocrine progenitors express Ngn3 and differentiate further into the five hormone-expressing cell types of the islet according, at least in part, to which other transcription factors are expressed. A subset of relevant transcription factors is listed. (Pagliuca, F. W. *et al*, 2013)

5.1. Alpha-to- β

As stated before, islets contain in their structure glucagon-producing α -cells. These types of cells gain importance when there is a state of extreme loss of β -cells, through GLP-1 secretion, which suggests a α -cell-mediated reaction to β -cell stress and damage (Cito, M. *et al*, 2018).

Collombat *et al* made evidence that the excess of expression of ectopic Paired Box 4 (PAX4) (Collombat, P. *et al*, 2009) or the suppression of Aristaless-Related Homeobox (ARX) (Courtney, M. *et al*, 2013) are capable of establishing a differentiation of α -cells into fully functional β -cells, and prevent STZ-induced hyperglycemia in mice. Also, Thorel *et al* demonstrated that provoking almost total β -cell removal by administration of diphtheria toxin led to α -cells level increase and spontaneous conversion into β -cells (Thorel, F. *et al*, 2010). More recently, it was discovered that long-term administration of γ -aminobutyric acid (GABA) plays a key role in human α -cell-mediated β -like cell neogenesis. Later, Li *et al* proved this information was true by identifying Artemisinins, an anti-malaric molecule involved in ARX repression, resulting in improved GABA signaling. Consequently, glucagon levels secreted by α -cells declined, whilst differentiation into β -cells became more significant (Li, J. *et al*, 2017). However, there is still some uncertainty concerning GABA transdifferentiation effects.

New researches have also achieved successful reprogramming of α -cells into insulin-producing β -cells, by providing *in vivo* transcription factors, such as PDX-1 and MAF-A, alongside with AAV directed into the mouse's pancreas via the pancreatic duct, which led to normoglycemia in both induced diabetic mice and also in autoimmune non-obese diabetic mice. This new approach also led to α -to- β conversion in toxin-treated islets and thus normal blood sugar levels in NOD/SCID mice upon transplantation (Xiao, X. *et al*, 2018).

5.2. Exocrine-to- β

5.2.1. Duct epithelial cells

Numerous reports have advocated that duct cells might be the main source for pancreatic regeneration and, thus, a main source for insulin-producing cells. Experiments related with genetic lineage mapping reported significant increase of β -cell population, after birth and after injury, contributed by cells that express carbonic anhydrase II within the ductal structures (Bonner-Weir, S. *et al*, 2008). Xu *et al* described activation of NGN3-expressing cells within the ducts, which contributed to the generation of new β -cells after partial duct ligation in adult mice (Xu, X. *et al*, 2008). Zhang *et al* showed evidence that ductal cell transdifferentiation and diabetes reversion in diabetic mice could be achieved with long term administration of EGFs and gastrin *in vivo* (Zhang, M. *et al*, 2016). Essential growth factors and strategies, such as GLP-1, exendin-1, activin A, among others, as well as aggregation of tissue in serum-free medium, have been proven to lead to insulin expression in pancreatic duct cell lines (Aguayo-Mazzucato, C. *et al*, 2010). Overall, these findings support the theory that pancreatic duct cells could be useful in β -cell replacement strategies.

5.2.2. Acinar cells

Acinar cells are a possible source of insulin-positive cells through differentiation, a process dependent on Notch signaling (Rooman, I. *et al*, 2006).

Early studies demonstrated capability of human exocrine pancreas derived acinar cells to transdifferentiate into amylase-negative, cytokeratin 19-positive and mucin 1-positive duct cells (Hall, P. A. *et al*, 1992). Combination of EGF and leukemia inhibitory factor and manipulation of cell culture conditions have generated functional β -cells from rat exocrine cells and were able to bring back normoglycemia in diabetic mice (Baeyens, L. *et al*, 2005).

Zhou *et al* described acinar-to- β transdifferentiation through adenoviral delivery of specific transcription factors, such as PDX1, NGN3 and MAFA, to the murine parenchyma. After the triple adenoviral transduction a 20% increase of insulin-positive cells resembling β -cells, in size and structure, was reported. Although it did not form islets neither became incorporated in them, this led to a decrease of hyperglycemia but, however, diabetes was not reversed (Zhou, Q. *et al*, 2008). This methodology is considered to have a reduced risk of tumor formation when compared with approaches involving a self-renewable, pluripotent stem cell, since it does not implicate activation of the cell cycle nor dedifferentiation. Nonetheless, the use of viruses brings up worries regarding insertional mutagenesis and tumor initiation and, therefore, the priority of ongoing investigations should be towards non-viral transporters of these transcription factors (Aguayo-Mazzucato, C. *et al*, 2010).

5.2.3. Liver Cells

Liver cells can also represent an exciting source of functional β -cells through transdifferentiation. It is known that liver cells share the same embryonic origin with pancreatic cells and also many specific genes, such as transcription factors, glucose transporter type 2 and glucokinase. Several studies have virally introduced different pancreatic transcription factors into the liver and demonstrated some induction of the β -cell phenotype (Aguayo-Mazzucato, C. *et al*, 2010). By using a lentivirus containing PDX-1 a shift of adult human liver cells into functional insulin-producing cells was observed. These cells revealed a β -cell-like phenotype and ameliorated hyperglycemia, when transplanted under the renal capsule of diabetic and immunodeficient mice, for long periods of time. This new strategy, when successful, offers the opportunity to diabetics to be their own donor of their own insulin-producing tissue (Sapir, T. *et al*, 2005).

5.2.4. Gastrointestinal cells

NGN-3 mice phenotype suggests that NGN-3 has a key importance in the early phases of endocrine differentiation in the pancreas, small intestine and a subset of cells in the stomach (Gradwohl, G. *et al*, 2000). It has been demonstrated that gastrointestinal cells are able to be shifted into cells able to produce insulin through expression or loss of specific transcription factors. For instance, it has been reported that intestinal cells originated functional β -like cells by removal of FOXO1 transcription factor (Bouchi, R. *et al*, 2014). A different study described that ectopic expression of specific transcription factors such as PDX1, MAFA and NGN3 resulted in a fast transformation of intestinal crypt cells towards endocrine cells. The

generation of insulin-producing “neoislets” below the crypt base capable of restoring euglycemia in diabetic mice was observed (Chen, Y. J. *et al*, 2014). In more recent years, Ariyachet and his colleagues demonstrated that antral enteroendocrine cells were also able to give rise to insulin-producing cells via adenoviral manifestation of the same transcription factors described previously, with a greater transdifferentiation efficacy. In addition, hyperglycemia reversion in diabetic mice was observed (Ariyachet, C. *et al*, 2016).

6. Stem cells and immunogenicity

As stated before, one of the major concerns with the old and new cell therapies against diabetes is the possibility of immune rejection. Therefore, some type of immunoprotection is necessary, even though new sources of β -cells are emerging, as it was demonstrated in the topics before. It is known that cells differentiated from human ESC preserve their antigenicity and, therefore, remain susceptible to transplant rejection and autoimmunity. Therefore, these cells will in all likelihood generate an immune response until a new process is created, in order to reduce antigenicity (d’Apice, A. J. F. *et al*, 2009). However, iPSC derived from somatic cells (e.g. fibroblasts) do not share this problem with the remaining cells (Hanna, J. *et al*, 2007). Tateishi *et al* reported success in directing these cells to an insulin-secreting phenotype and, consequently, offer a better way to replenish the β -cell deficit of T2D, since they are able to be generated from fibroblasts or other cell source, reducing the need for immunoprotection (Tateishi, K. *et al*, 2008).

The blood-mediated inflammatory response is elicited when the donor’s tissue contacts the recipient’s blood cells, which leads to innate immune system activation (Van der Windt, D. J. *et al*, 2007). This immune-mediated response can be ameliorated treating islets with anticoagulants, such as heparin and dextran sulfate. Engraftment failure due to immune-mediated attack in the form of, not only allograft rejection, but also reactivation or ongoing autoimmunity, leads to loss of transplanted islets (Harlan, D. M. *et al*, 2009). Moreover, the immunosuppressive drugs toxic effects, glucotoxicity and islet amyloid deposition can also be part of this problem (O’Sullivan, E. S. *et al*, 2011).

Autoimmunity stands as a major challenge concerning T1D treatment via islet transplantation alongside with its host response. The frequency of islet transplantation rejection seems to be elevated in recipients with circulating anti-glutamic acid decarboxylase and anti-insulinoma associated protein antibodies, markers of autoimmune β -cell destruction in T1D (Jaeger, C. *et al*, 1997). As a matter of fact, this rejection frequency is higher to recipients sharing common

HLA-I alleles and, therefore, indicative of auto-immune cell-mediated destruction of the donor tissue being recognized as self. Likewise, autoreactive T cells also play a significant role in the transplanted islets rejection (Hilbrands, R. *et al*, 2009). On the other hand, Bellin *et al* demonstrated a superior survival rate in autologous islet transplants in comparison with the allogenic transplanted stated previously (Bellin, M. D. *et al*, 2011).

As mentioned before, protocols regarding immunosuppression, necessary for islet transplantation, have always been linked with adverse effects on the transplanted tissue (O'Sullivan, E. S. *et al*, 2011). Immunosuppressive drugs, such as cyclosporine, tacrolimus and sirolimus, are associated with revascularization and β -cell engraftment inhibition (Mineo, D. *et al*, 2009). Furthermore, another immunosuppressive drug, mycophenolate mofetil, shows evidence of β -cell replication and neogenesis inhibition (Gao, R. *et al*, 2007). Additionally, it is known that these drugs, especially corticosteroids and calcineurin inhibitors (e.g. tacrolimus and sirolimus), are connected to cardiovascular disease progression and nephrotoxicity, in that order (O'Sullivan, E. S. *et al*, 2011).

One of the most followed immunosuppression protocol is the Edmonton protocol, described previously. The most attractive feature associated with this protocol was the fact that it was a corticosteroid-free immunosuppression, followed by induction with daclizumab (a monoclonal antibody to IL-2 receptor), high-dose sirolimus in the first 3 months and low-dose tacrolimus (Shapiro, J. A. M. *et al*, 2000). In 2007, Lakey *et al* conducted and reported islet and kidney transplants in two patients under steroid and cyclosporine immunosuppression, and it was demonstrated prolonged functional graft survival, contradicting the importance of absence of steroids in this line of treatment (Lakey, J. R. *et al*, 2007). New treatment agents have emerged recently with the prospect of being potentially less toxic, such as induction agents OKT3, rabbit anti-thymocyte globulin (Hering, B. J. *et al*, 2005), TNF- α blockers infliximab and etanercept, associated with β -cell loss and periinfusion inflammation reduction (Froud, T. *et al*, 2005). Hering *et al* implemented a protocol consisting of anti-thymocyte globulin and etanercept in the peritransplant period, followed by tacrolimus and sirolimus administration. Insulin independence was attained in all patients and graft failure was linked with subtherapeutic levels of the calcineurin inhibitors used, suggestive of satisfying islet engraftment due to immunosuppression (Hering, B. J. *et al*, 2005). Moreover, insulin independence in the long term was obtained with the introduction of everolimus and cyclosporine, along with the previous induction agents described (Bellin, M. D. *et al*, 2008).

7. Discussion

Current treatment options against T1D consists of exogenous insulin administration and pancreas or islet transplantation. Although it is the most prominent method to treat T1D patients, this option carries some complications, such as the risk of hypoglycemia and also the risk of lack of patient compliance (Polonsky, K. S., 2012). In addition, it does not have curative purposes, since it does not accomplish β -cell replenishment, being only an option for glycemic control (Cito, M. *et al*, 2018). Researchers, then, focused on finding a way not only to control glycaemia levels but also to replace and replenish β -cells levels in patients with diabetes. Islet and pancreas transplantation can revert hyperglycemia and secondary diabetes-related complications but there several obstacles to overcome among which the risk of engraftment failure post transplantation, donor scarcity and the necessity of immunosuppression post transplantation (Antonioli, B. *et al*, 2018). Short-term insulin independence has been obtained in various studies, especially after the implantation of the “Edmonton Protocol” and, since then, progresses in islet purification methods and cell mass conservation have been made. Nevertheless, long-term islet function loss and graft failure is still an unresolved issue and it can be explained by lack of vascularization of transplanted grafts (O’Sullivan, E. S. *et al*, 2011). Numerous approaches have been made to overcome this issue by improving islet vascularization and promoting islet survival and angiogenesis, such as encapsulation employed to protect the mass transplanted from the autoimmune response (O’Sullivan, E. S. *et al*, 2011).

Donor scarcity is an issue directly related to the problem of high demand and low supply concerning pancreas and islet transplant. In order to surmount this, new cell therapy techniques have been subject of research using ESCs and iPSCs to generate cells able to produce insulin via differentiation *in vitro*. These new approaches are what is believed to be the future of T1D treatment. The ability to create an infinite pool of insulin-positive cells with the potential for transplantation generated great expectations among researchers. Whilst this novel technique is being perfected there are still some issues concerning stem cell therapy, with one of them being *in vitro* maturation efficacy of iPSC and ESCs cells compared with adult human cells. For this reason, nowadays progress is being made in protocol development in this area (Cito, M. *et al*, 2018).

The last obstacle relates to the burden of immunosuppression, necessary for the transplantation of cell mass (Antonioli, B. *et al*, 2018). Diabetic patients are exposed to life-long immune suppression to avoid transplanted tissue destruction provoked by an immune response post-transplantation. Consequently, these individuals are exposed to an elevated risk

of infectious diseases while receiving treatment (Antonioli, B. *et al*, 2018). In order to surpass this difficulty, new approaches are being studied, such as immune protective encapsulation devices (Cito, M. *et al*, 2018). The example given before was TheraCyte™, an encapsulation device made to protect the transplanted graft from the immune response after transplantation.

8. Conclusion

Over the years, T1D has become an emerging problem with an increasing prevalence all over the world. For this reason, it has been given more and more attention towards new treatment solutions. 40 years ago one of the *major* breakthroughs concerning this problematic was made: the islet transplantation. This method of treatment has been in constant optimization and is still one of the most promising routes to β -cell replacement and diabetes cure with minimum risk. In part, progresses in this field also led to a better understanding of β -cell mechanisms and pathways not only to replace but also to generate new functional β -cells. In recent years great progress has been made in this field, particularly the finding of iPSC and ESC as potential sources of β -cells through their differentiation.

However, there are still many obstacles concerning these approaches, despite continuous research and upgrade. The problem of supply and demand is still one of the biggest problems about islet transplantation, due to a very high demand of islets and an insufficient number of donors in order to fulfill the needs for an appropriate islet transplantation. The use of stem cell therapy to treat diabetes also has some issues needed to be solved, namely the efficiency of differentiation and maturation *in vitro*. Other major issue concerns the need for immunosuppression, which can lead to immunogenicity and autoimmunity.

The main challenge for researchers in next years will be finding ways to overcome these difficulties concerning diabetes cell therapy with focus on immunogenicity and new techniques to protect the cells from autoimmunity. This can be achieved with help from a physical barrier or microencapsulation in order to protect transplanted cells from rejection and autoimmunity.

9. Bibliography

Aguayo-Mazzucato, C. and Bonner-Weir, S. (2010) 'Stem cell therapy for type I diabetes mellitus', *Nature Reviews Endocrinology*, 6(3), pp. 139–148. doi: 10.1038/nrendo.2009.274.

American Diabetes Association (2010) 'Diagnosis and classification of diabetes mellitus', *Diabetes Care*, 33(1), pp. 62–69. doi: 10.2337/dc10-S062.

Anjum, M. S. et al. (2017) 'Transplantation of stromal-derived factor 1 α and basic fibroblast growth factor primed insulin-producing cells reverses hyperglycaemia in diabetic rats', *Growth Factors*, 35(2–3), pp. 88–99. doi: 10.1080/08977194.2017.1363745.

Antonioli, B. and Galuzzi, M. (2018) 'Islet transplantation 30 years after the first transplants', *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 22(5), pp. 1463–1468. doi: 10.26355/eurrev_201803_14494.

Ariyachet, C. et al. (2016) 'Reprogrammed Stomach Tissue as a Renewable Source of Functional β Cells for Blood Glucose Regulation', *Cell Stem Cell*, 18(3), pp. 410–421. doi: 10.1016/j.stem.2016.01.003.

Baeyens, L. et al. (2005) 'In vitro generation of insulin-producing beta cells from adult exocrine pancreatic cells', *Diabetologia*, 48(1), pp. 49–57. doi: 10.1007/s00125-004-1606-1.

Baiu, D., Merriam, F. and Odorico, J. (2011) 'Potential pathways to restore β -cell mass: Pluripotent stem cells, reprogramming, and endogenous regeneration', *Current Diabetes Reports*, 11(5), pp. 392–401. doi: 10.1007/s11892-011-0218-7.

Bellin, M. D. et al. (2008) 'Prolonged Insulin Independence after Islet allotransplants in Recipients with Type I Diabetes', *American Journal of Transplantation*, 6(9), pp. 2166–2171. doi: 10.1111/j.1600-6143.2008.02404.x.

Bellin, M. D. et al. (2011) 'Similar islet function in islet allotransplant and autotransplant recipients, despite lower islet mass in autotransplants', *Transplantation*, 91(3), pp. 367–372. doi: 10.1097/TP.0b013e318203fd09.

Bonner-Weir, S. et al. (2008) 'Transdifferentiation of pancreatic ductal cells to endocrine β -cells', *Biochemical Society Transactions*, 36(3), pp. 353–356. doi: 10.1042/BST0360353.

Bouchi, R. et al. (2014) 'FOXO1 inhibition yields functional insulin-producing cells in human gut organoid cultures', *Nature Communications*, 5(May), pp. 1–11. doi: 10.1038/ncomms5242.

- Bruin, J. E. *et al.* (2013) 'Maturation and function of human embryonic stem cell-derived pancreatic progenitors in macroencapsulation devices following transplant into mice', *Diabetologia*, 56(9), pp. 1987–1998. doi: 10.1007/s00125-013-2955-4.
- Chen, Y. J. *et al.* (2014) 'De Novo Formation of Insulin-Producing "Neo- β Cell Islets" from Intestinal Crypts', *Cell Reports*, 6(6), pp. 1046–1058. doi: 10.1016/j.celrep.2014.02.013.
- Cito, M. *et al.* (2018) 'The potential and challenges of alternative sources of β cells for the cure of type 1 diabetes', *Endocrine Connections*, 7(3), pp. 114–125. doi: 10.1530/EC-18-0012.
- Collombat, P. *et al.* (2009) 'The Ectopic Expression of Pax4 in the Mouse Pancreas Converts Progenitor Cells into α and Subsequently β Cells', *Cell*, 138(3), pp. 449–462. doi: 10.1016/j.cell.2009.05.035.
- Corritore, E. *et al.* (2016) 'B-Cell Replacement Sources for Type 1 Diabetes: a Focus on Pancreatic Ductal Cells', *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*, 7(4), pp. 182–199. doi: 10.1177/2042018816652059.
- Courtney, M. *et al.* (2013) 'The Inactivation of Arx in Pancreatic α -Cells Triggers Their Neogenesis and Conversion into Functional β -Like Cells', *Public Library of Science Genetics*, 9(10). doi: 10.1371/journal.pgen.1003934.
- D'Amour, K. A. *et al.* (2005) 'Efficient differentiation of human embryonic stem cells to definitive endoderm', *Nature Biotechnology*, 23(12), pp. 1534–1541. doi: 10.1038/nbt1163.
- d'Apice, A. J. F. and Cowan, P. J. (2009) 'Xenotransplantation: The next generation of engineered animals', *Transplant Immunology*, 21(2), pp. 111–115. doi: 10.1016/j.trim.2008.10.003.
- Froud, T. *et al.* (2005) 'Islet transplantation in type 1 diabetes mellitus using cultured islets and steroid-free immunosuppression: Miami experience', *American Journal of Transplantation*, 5(8), pp. 2037–2046. doi: 10.1111/j.1600-6143.2005.00957.x.
- Gao, R. *et al.* (2007) 'Effects of immunosuppressive drugs on in vitro neogenesis of human islets: Mycophenolate mofetil inhibits the proliferation of ductal cells', *American Journal of Transplantation*, 7(4), pp. 1021–1026. doi: 10.1111/j.1600-6143.2006.01728.x.
- Gradwohl, G. *et al.* (2000) 'Neurogenin3 Is Required for the Development of the Four Endocrine Cell Lineages of the Pancreas', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(4), pp. 1607–1611. doi: 10.1073/pnas.97.4.1607.

- Hall, P. A. and Lemoine, N. R. (1992) 'Rapid acinar to ductal transdifferentiation in cultured human exocrine pancreas', *The Journal of Pathology*, 166(2), pp. 97–103. doi: 10.1002/path.1711660203.
- Hanna, J. et al. (2007) 'Treatment of sickle cell anemia mouse model with iPS cells generated from autologous skin', *Science*, 318(5858), pp. 1920–1923. doi: 10.1126/science.1152092.
- Harlan, D. M. et al. (2009) 'Current advances and travails in islet transplantation', *Diabetes*, 58(10), pp. 2175–2184. doi: 10.2337/db09-0476.
- Hering, B. J. et al. (2005) 'Single-Donor, Marginal-Dose Islet Transplantation in Patients With Type 1 Diabetes', *Journal of the American Medical Association*, 293(7), pp. 830–835. doi: 10.1001/jama.293.7.830.
- Hilbrands, R. et al. (2009) 'Differences in Baseline Lymphocyte Counts and Autoreactivity Are Associated With Differences in Outcome of Islet Cell Transplantation in Type 1 Diabetic Patients', *Diabetes*, 58(October), pp. 2267–2276. doi: 10.2337/db09-0160.
- Hogan, A., Pileggi, A. and Ricordi, C. (2008) 'Transplantation: current developments and future directions; The future of clinical islet transplantation as a cure for diabetes', *Frontiers in Bioscience*, 13(1), pp. 1192–1205. doi: 10.2741/2755.
- Jaeger, C. et al. (1997) 'Progressive Islet Graft Failure Occurs Significantly Earlier in Autoantibody-Positive Than in Autoantibody-Negative IDDM Recipients of Intrahepatic Islet allografts', *Diabetes*, 46(1), pp. 1907–1910. doi: 10.2337/diabetes.46.11.1907.
- James, D. et al. (2005) 'TGF /activin/nodal signaling is necessary for the maintenance of pluripotency in human embryonic stem cells', *Development*, 132(6), pp. 1273–1282. doi: 10.1242/dev.01706.
- Kroon, E. et al. (2008) 'Pancreatic endoderm derived from human embryonic stem cells generates glucose-responsive insulin-secreting cells in vivo', *Nature Biotechnology*, 26(4), pp. 443–452. doi: 10.1038/nbt1393.
- Lakey, J. R. et al. (2007) 'Long-term graft function after allogeneic islet transplantation', *Cell Transplantation*, 16(4), pp. 441–446. doi: 10.3727/000000007783464849.
- Li, J. et al. (2017) 'Artemisinin Target GABAAR Receptor Signaling and Impair α Cell Identity', *Cell*, 168(1–2), pp. 1–15. doi: 10.1016/j.cell.2016.11.010.

- Lipsett, M. and Finegood, D. T. (2002) 'B-Cell Neogenesis During Prolonged Hyperglycemia in Rats', *Diabetes*, 51(6), pp. 1834–1841. doi: 10.2337/diabetes.51.6.1834.
- Llacua, L. A., Faas, M. M. and de Vos, P. (2018) 'Extracellular matrix molecules and their potential contribution to the function of transplanted pancreatic islets', *Diabetologia*, 61(6), pp. 1261–1272. doi: 10.1007/s00125-017-4524-8.
- Lysy, P. A., Weir, G. C. and Bonner-weir, S. (2012) 'Concise Review : Pancreas Regeneration : Recent Advances and Perspectives', *Stem Cells Translational Medicine*, 1(1), pp. 150–159. doi: 10.5966/sctm.2011-0025.
- Matsumoto, S. et al. (2007) 'Improvement of pancreatic islet cell isolation for transplantation.', *Baylor University Medical Center Proceedings*, 20(4), pp. 357–62. doi: 10.1080/08998280.2007.11928323.
- Mineo, D. et al. (2009) 'Minimization and withdrawal of steroids in pancreas and islet transplantation', *Transplant International*, 22(1), pp. 20–37. doi: 10.1111/j.1432-2277.2008.00761.x.
- Muir, K. R. et al. (2014) 'Cell therapy for type 1 diabetes', *QJM: An International Journal of Medicine*, 107(4), pp. 253–259. doi: 10.1093/qjmed/hcu025.
- Noguchi, H. et al. (2005) 'Cell permeable peptide of JNK inhibitor prevents islet apoptosis immediately after isolation and improves islet graft function', *American Journal of Transplantation*, 5(8), pp. 1848–1855. doi: 10.1111/j.1600-6143.2005.00985.x.
- O'Sullivan, E. S. et al. (2011) 'Islets transplanted in immunoisolation devices: A review of the progress and the challenges that remain', *Endocrine Reviews*, 32(6), pp. 827–844. doi: 10.1210/er.2010-0026.
- Pagliuca, F. W. and Melton, D. A. (2013) 'How to make a functional B-cell', *Development*, 140(12), pp. 2472–2483. doi: 10.1242/dev.093187.
- Paraskevas, S. et al. (2001) 'Modulation of JNK and p38 stress activated protein kinases in isolated islets of Langerhans: Insulin as an autocrine survival signal', *Annals of Surgery*, 233(1), pp. 124–133. doi: 10.1097/00000658-200101000-00018.
- Phelps, E. A. et al. (2013) 'Vasculogenic bio-synthetic hydrogel for enhancement of pancreatic islet engraftment and function in type 1 diabetes', *Biomaterials*, 34(19), pp. 4602–4611. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.03.012.

- Polonsky, K. S. (2012) 'The Past 200 Years in Diabetes', *New England Journal of Medicine*, 367(14), pp. 1332–1340. doi: 10.1056/NEJMr1110560.
- Robertson, R. P. (2004) 'Islet Transplantation as a Treatment for Diabetes — A Work in Progress', *New England Journal of Medicine*, 350(7), pp. 694–705. doi: 10.1056/NEJMr032425.
- Rooman, I. et al. (2006) 'Expression of the notch signaling pathway and effect on exocrine cell proliferation in adult rat pancreas', *American Journal of Pathology*, 169(4), pp. 1206–1214. doi: 10.2353/ajpath.2006.050926.
- Sapir, T. et al. (2005) 'Cell-replacement therapy for diabetes: Generating functional insulin-producing tissue from adult human liver cells', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(22), pp. 7964–7969. doi: 10.1073/pnas.0405277102.
- Shapiro, J. A. M. et al. (2000) 'Islet Transplantation in Seven Patients with Type I Diabetes Mellitus Using a Glucocorticoid-free Immunosuppressive Regimen', *The New England Journal of Medicine*, 343(4), pp. 230–238. doi: 10.1056/NEJM200007273430401.
- Takahashi, K. and Yamanaka, S. (2006) 'Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors', *Cell*, 126(4), pp. 663–676. doi: 10.1016/j.cell.2006.07.024.
- Tateishi, K. et al. (2008) 'Generation of insulin-secreting islet-like clusters from human skin fibroblasts', *Journal of Biological Chemistry*, 283(46), pp. 31601–31607. doi: 10.1074/jbc.M806597200.
- TheraCyte (2004) 'The Technology'. Available at: <http://www.theracyte.com/TheTechnology.htm> (Accessed: 9 May 2018).
- Thorel, F. et al. (2010) 'Conversion of adult pancreatic α -cells to B-cells after extreme B-cell loss', *Nature*, 464(7292), pp. 1149–1154. doi: 10.1038/nature08894.
- Van Belle, T. and von Herrath, M. (2008) 'Immunosuppression in islet transplantation', *The Journal of Clinical Investigation*, 118(5), pp. 1625–1628. doi: 10.1172/JCI35639.
- Van Der Windt, D. J. et al. (2007) 'Rapid loss of intraportally transplanted islets: An overview of pathophysiology and preventive strategies', *Xenotransplantation*, 14(4), pp. 288–297. doi: 10.1111/j.1399-3089.2007.00419.x.
- World Health Organization (2008) 'The Global Burden of Disease: 2004 update'. doi: 10.1038/npp.2011.85.

- World Health Organization (2016) 'Diabetes Country Profiles - Portugal'. Available at: http://www.who.int/diabetes/country-profiles/prt_en.pdf?ua=1 (Accessed: 22 April 2018).
- Xiao, L., Yuan, X. and Sharkis, S. J. (2006) 'Activin A Maintains Self-Renewal and Regulates Fibroblast Growth Factor, Wnt, and Bone Morphogenic Protein Pathways in Human Embryonic Stem Cells', *Stem Cells*, 24(6), pp. 1476–1486. doi: 10.1634/stemcells.2005-0299.
- Xiao, X. *et al.* (2018) 'Endogenous Reprogramming of Alpha Cells into Beta Cells, Induced by Viral Gene Therapy, Reverses Autoimmune Diabetes', *Cell Stem Cell*, 22(1), pp. 78–90. doi: 10.1016/j.stem.2017.11.020.
- Xu, X. *et al.* (2008) ' β Cells Can Be Generated from Endogenous Progenitors in Injured Adult Mouse Pancreas', *Cell*, 132(2), pp. 197–207. doi: 10.1016/j.cell.2007.12.015.
- Zhang, M. *et al.* (2016) 'Growth factors and medium hyperglycemia induce Sox9 + ductal cell differentiation into β cells in mice with reversal of diabetes', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(3), pp. 650–655. doi: 10.1073/pnas.1524200113.
- Zhou, Q. *et al.* (2008) 'In vivo reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to β -cells', *Nature*, 455(7213), pp. 627–632. doi: 10.1038/nature07314.
- Zorn, A. M., Butler, K. and Gurdon, J. B. (1999) 'Anterior endomesoderm specification in *Xenopus* by Wnt/beta-catenin and TGF-beta signalling pathways.', *Developmental biology*, 209(2), pp. 282–97. doi: 10.1006/dbio.1999.9257.