

Ângela Patrícia Dias Pinto

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada «Integrinas e Moléculas de Adesão como Alvos Terapêuticos na Esclerose Múltipla»

Dissertação no âmbito do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pelo Doutor João Manuel Baliza Santiago Maia, Doutora Cláudia Gama e Professora Doutora Alexandrina Ferreira Mendes e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro de 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Ângela Patrícia Dias Pinto

**Relatórios de Estágio e Monografia intitulada «Integrinas
e Moléculas de Adesão como Alvos Terapêuticos na
Esclerose Múltipla»**

Sob orientação do Doutor João Manuel Baliza Santiago Maia, Doutora Cláudia Gama e Professora Doutora Alexandrina Ferreira Mendes, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Ângela Patrícia Dias Pinto, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº201352346, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo dos Documentos Relatórios de Estágios e Monografia intitulada “Integrinas e Moléculas de Adesão como Alvos Terapêuticos na Esclerose Múltipla” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 4 de setembro de 2018.

Ângela Pinto

Índice

Parte I: Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

1.Introdução	10
1.1 Enquadramento da Instituição	10
1.2 Enquadramento do local de estágio.....	11
2. Análise SWOT.....	11
2.1 Forças (Strenghts)	11
2.1.1 Localização	11
2.1.2 Novo Espaço	12
2.1.3 Receção e Integração	13
2.1.4 Horário alargado	13
2.1.5 Equipa	14
2.1.6 Indicação Farmacêutica	14
2.1.7 Atividades de Gestão em Farmácia Comunitária	15
2.1.8 Protocolos.....	16
2.1.9 Formações.....	17
2.1.10 Trabalho por Objetivos.....	17
2.1.11 Fidelização de Utentes.....	18
2.2 Fraquezas (Weaknesses).....	19
2.2.1 Medicamentos Manipulados	19
2.2.2 Medicamentos de Uso Veterinário.....	19
2.2.3 Receita Manual	20
2.3 Oportunidades (Opportunities).....	20
2.3.1 Público Jovem	20
2.3.2 Metodologia Kaizen	21
2.3.3 Receita Sem Papel.....	22
2.3.4 Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica	22
2.4 Ameaças (Threats).....	23
2.4.1 Receita Sem Papel.....	23
2.4.2 Serviços Gratuitos	25
3. Papel do Farmacêutico na Promoção da Adesão à Terapêutica.....	25
4.Conclusão	29
5.Referências Bibliográficas	30
6. Anexos.....	34

Índice de Ilustrações

Figura 1 Novas instalações da Farmácia Machado	34
Figura 2 Aumento do número de farmácias em insolvência ou penhora de dezembro de 2012 a julho de 2016.....	34
Figura 3 Contentor VALORMED na FM	35
Figura 4 Enquadramento de MNSRM no mercado total de medicamentos.....	35
Figura 5 Guia Terapêutico	36

Parte II: Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

I. Introdução	41
1.1 Instituição	41
2. Análise SWOT	42
2.1 Pontos fortes (Strengths)	42
2.1.1 Sessão de Acolhimento	42
2.1.2 Visita às instalações	42
2.1.3 Formação interna contínua	43
2.1.4 Plano de Estágio	43
2.1.5 Preparação e Controlo de Meios de Cultura	44
2.1.6 Análise de Água Purificada	45
2.1.7 Verificação do processo de limpeza	46
2.1.8 Análise Microbiológica do Ar	46
2.1.9 Acompanhamento de atividades de outros setores	47
2.2 Pontos Fracos (Weaknesses)	48
2.2.1 Reconhecimento do Estágio em Indústria Farmacêutica	48
2.2.2 Controlo de Qualidade de Formas Farmacêuticas Orais Não Estéreis	48
2.2.3 Métodos Convencionais na Análise Microbiológica	49
2.2.4 Registos	49
2.3 Oportunidades (Opportunities)	49
2.3.1 Auditorias	49
2.3.2 Estágios Curriculares	49
2.4 Ameaças (Threats)	50
2.4.1 Áreas de Formação na Indústria Farmacêutica	50
3. Caso Prático	50
3.1 Validação de Método de Análise Microbiológica	50
4. Conclusão	53

5. Referências Bibliográficas	54
6. Anexos.....	57

Índice de Ilustrações

Figura 1 Potenciômetro 713 pHmeter	57
Figura 2 Autoclave Matachana	57
Figura 3 Pesagem de amostra na balança Mettler Toledo-PB3002	58
Figura 4 Método de sementeira em profundidade	58
Figura 5 Esquematização do Teste de enumeração microbiológica.....	59
Figura 6 <i>E.coli</i> em MCA	59
Figura 7 Esquematização do Teste microbiológico para detecção de <i>E.coli</i>	60

Parte III: Monografia – Integrinas e Moléculas de Adesão como Alvos Terapêuticos da Esclerose Múltipla

I. Introdução	67
I.1 Fisiopatologia da Esclerose Múltipla.....	67
Patogênese	68
Sintomas.....	70
Classificação clínica da doença.....	70
I.2 Diagnóstico	71
I.3 Etiologia e Epidemiologia.....	71
I.4 Genética	72
I.5 Necessidade de novas abordagens terapêuticas.....	73
2. Integrinas e moléculas de adesão	74
2.1 Integrinas presentes nos leucócitos	75
2.2 Anticorpos Monoclonais.....	76
2.3 Antagonistas das integrinas	77
3. Perspetivas futuras	80
4. Conclusão	81
5. Referências Bibliográficas	82
6. Anexos.....	87

Índice de Ilustrações

Figura 1 Imunopatologia da EM.....	87
Figura 2 Quadro clínico da EM	87
Figura 3 Prevalência da EM por país em 2013	88

Figura 4 Subunidades das integrinas e respectivas interações.....	88
Figura 5 Etapas da transmigração de leucócitos mediada pelas integrinas $\alpha 4$	89
Figura 6 Cronologia do desenvolvimento do Natalizumab	89

Índice de tabelas

Tabela 1 Critérios de diagnóstico de McDonald.....	90
Tabela 2 Evolução dos critérios de RMN para a disseminação no espaço e no tempo, Critérios de McDonald.....	91

PARTE I: Relatório do Estágio Curricular em Farmácia Comunitária

Farmácia Machado



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Agradecimentos

Quero deixar o meu agradecimento a toda a equipa da Farmácia Machado pela forma como me receberam e como se tornaram mais do que apenas o meu local de estágio.

Ao Dr. João agradeço a confiança que em mim depositou, que me permitiu crescer a nível profissional.

À Dr.^a Graziela agradeço a ajuda sem hesitações, principalmente quando da minha saúde se tratava.

Ao Sr. Eduardo fico grata por ter intercetado por mim nas situações mais complicadas.

À Dr.^a Rita um agradecimento especial por ouvir sempre as minhas dúvidas, me ajudar e se ter tornado mais do que uma colega de equipa.

Também à Dr.^a Mariana um especial obrigado pela paciência pelas minhas curiosidades e, mais ainda, pela amizade que ficou após este estágio.

À Dr.^a Maria João agradeço a companhia nas horas em que o cansaço era maior.

Aos meus colegas de estágio, Francisca e André, obrigada pelo companheirismo e partilhas.

Abreviaturas

° C	Graus Celsius
CDOF	Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos
FIP	Federação Internacional Farmacêutica
FM	Farmácia Machado
FFUC	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
HUC	Hospitais da Universidade de Coimbra
LIGA	Liga Portuguesa Contra o Cancro
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
MNSRM	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
MUV	Medicamentos de Uso Veterinário
OF	Ordem dos Farmacêuticos
OMS	Organização Mundial de Saúde
SEP	<i>Students Exchange Program</i>
SNS	Sistema Nacional de Saúde
SWOT	<i>Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats</i>

I. Introdução

A farmácia comunitária é uma área, dentro dos vários campos de ação do farmacêutico, onde este, dotado do conhecimento para a função, exerce esse dito conhecimento através do ato farmacêutico, do conhecimento do medicamento e da ação de promoção para a saúde. Em suma, apresenta-se como o profissional com resposta e solução às mais diversas necessidades que o utente possa apresentar.

O seguinte relatório visa apresentar a análise SWOT do estágio curricular na Farmácia Machado (FM) relativa à frequência do mesmo, integração da aprendizagem teórica e em contexto simulado na prática profissional e à adequação do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) às perspetivas profissionais futuras. O relatório é referente à unidade curricular «Estágio» no âmbito do MICF da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC).

O citado estágio decorreu sob a orientação do Dr. João Maia com início a 1 de abril e término a 19 de julho de 2018 com um total de 658 horas.

I.1 Enquadramento da Instituição

A FM abriu portas no ano de 1927, na porta 19B da Rua Bernardo de Albuquerque em Coimbra. Esta é, sem dúvida, uma farmácia que marca pela história, pelo reconhecimento por parte dos utentes e proximidade dos mesmos, dada a sua localização numa zona que se caracteriza pelo ambiente familiar.

A equipa da FM é formada por quatro farmacêuticos: Dr. João Maia, diretor técnico; Dr.^a Graziela Grade, farmacêutica substituta; Dr.^a Rita Garrett, farmacêutica; Dr.^a Mariana Lopes, farmacêutica e um técnico auxiliar de farmácia Sr. Eduardo Cruz. Com diferentes experiências anteriores, mas visões conjugadas no objetivo de ser uma equipa preparada para a presença na primeira linha do contacto com o utente.

Foi em janeiro do ano de 2018 que a FM mudou as suas instalações para a porta 8C, mantendo-se na Rua Bernardo de Albuquerque, em celas, por forma a oferecer um espaço alargado ao utente com novas valências, como as consultas de nutrição, e maior taxa de resposta às necessidades do mesmo. Assim, a FM continuou a ser uma referência na zona, com mais critérios a justificar tal classificação, a serem analisados ao longo do presente relatório.

A minha escolha para a realização do estágio curricular na FM baseou-se, sem dúvida, na posição que esta marca no local onde se situa e pelas oportunidades que dessa

vantagem iriam certamente surgir. Em acréscimo e para eliminar dúvidas, a minha decisão tornou-se clara após a visita à mesma onde o aconselhamento farmacêutico no atendimento demonstrou o valor da equipa.

1.2 Enquadramento do local de estágio

O novo espaço da FM, como já referido, veio oferecer ainda mais respostas às necessidades dos utentes. Este possui:

Espaço de atendimento: Um alargado espaço em volta do qual se distinguem vários lineares na área da cosmética e de cuidados da pele.

Gabinete: Corresponde ao espaço no qual decorrem as consultas semanais de nutrição, medição de glicémia e pressão arterial.

Back office: Neste encontra-se o local destinado à receção de encomendas e armazenamento de medicamentos, tanto à temperatura inferior a 25° C como no frio, entre 3° C e 8° C, onde há um frigorífico específico para o armazenamento desses medicamentos.

Laboratório: Área reservada do *back office* que a FM dispõe para preparação de medicamentos manipulados e preparações extemporâneas. (**Figura I**)

2. Análise SWOT

Foi com o objetivo de analisar casos de estudo que, na década de 1950 surgiu em Harvard, desenvolvida pelos professores George Albert Smith Jr. e C Roland Christensen, a análise SWOT. Estes professores criaram uma ferramenta que, a nível organizacional, permitia uma análise face ao ambiente envolvente. A ideia original foi desenvolvida ao longo das décadas seguintes e discutida como sendo um marco no pensamento estratégico levando organizações a definir as suas forças, fraquezas, oportunidades e ameaças¹.

Em português, o acrónimo que se tem utilizado é FOFA (Forças, Oportunidades, Fraquezas, Ameaças)².

2.1 Forças (*Strenghts*)

2.1.1 Localização

A FM localiza-se na Rua Bernardo de Albuquerque que se situa numa área de Coimbra denominada celas. Esta é, sem dúvida, a «área de Saúde em Coimbra» por

excelência. Nela se localizam os Hospitais da Universidade de Coimbra (HUC), o Hospital Pediátrico, Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil, Unidade de Saúde Familiar Cruz de Celas e uma série de consultórios médicos privados. É de destacar que os HUC são o principal hospital da região centro, onde muitos doentes de todo o país são consultados diariamente, pelo que o potencial de prescrições é enorme.

Uma vez que a maior fração da faturação de uma farmácia comunitária são as prescrições médicas³, a proximidade da FM de tão diversificados e distintos locais de prescrição é talvez a principal força da mesma. Para além disso os HUC são o maior empregador de Coimbra pelo que os funcionários deste hospital são potenciais utentes da FM.

2.1.2 Novo Espaço

No ano de 2018, em janeiro, a FM mudou-se para um novo espaço, localizado a poucos metros de distância do antigo espaço. Este novo espaço, para além de instalações mais modernas, dispõe de uma maior área de atendimento. Este aspeto é particularmente importante por vários motivos:

- i. Maior rapidez de atendimento uma vez que permite mais atendimentos em simultâneo dado o aumento do número de postos para o efeito;
- ii. Possibilidade de maior número e maior variedade de produtos expostos que podem influenciar compras por impulso recordado e por impulso puro;
- iii. As pessoas que estão à espera de serem atendidas podem circular mais fluentemente pelo espaço e contactar diretamente com os produtos expostos, mais uma vez influenciando as compras por impulso recordado e por impulso puro;
- iv. Possibilidade de influenciar positivamente as pessoas que estão no espaço exterior a decidir se entram porque mesmo que haja pessoas à espera vão estar mais dispersas pelo espaço e, portanto, haverá por parte das pessoas que se encontram na rua uma perceção de menor tempo de espera caso decidam entrar, atendendo também aos vários postos de atendimento.

O espaço maior permitiu também ter um *back office* maior que se reproduz na vantagem de conseguir albergar um stock maior, diminuindo de forma considerável as faltas, contribuindo assim para a fidelização do utente^{4,5}.

A mudança foi importante pelos motivos supracitados, mas foi igualmente importante que tenha sido para um local próximo para não perder os utentes que constituem a «carteira de clientes», isto é, os utentes fidelizados que adquirem sempre ou muito frequentemente os seus medicamentos e produtos de saúde e bem-estar na FM. São estes o garante da farmácia porque constituem a faturação base regular da farmácia. Para além disso, são mais compreensivos e tolerantes no que toca ao erro e quando não há um medicamento/produto disponível na farmácia no momento, mas é possível encomendá-lo para mais tarde ou outro dia². A localização de uma farmácia é, portanto, um fator de fidelização do utente, quer seja porque se trata da sua área residencial, laboral, de estudo ou lazer, pelo que caso a mudança ocorresse para um local totalmente distinto isso poderia levar provavelmente à perda de alguns clientes já fidelizados.

2.1.3 Receção e Integração

Experiente em receber estagiários, a FM todos os anos, e várias vezes por ano, recebe alunos para, durante um período de tempo estipulado, poderem integrar-se no ambiente da farmácia comunitária, aprender e aplicar as suas aprendizagens. Assim, a FM recebe estagiários do MICE para estágio curricular, estagiários de verão e ainda alunos do programa SEP (*Students Exchange Program*) que vêm dos mais variados pontos do globo.

Posto isto, a farmácia apresenta assim uma grande capacidade para receber e integrar estagiários no seu ambiente e na sua equipa. Posso assim referir que este foi um ponto forte visto que fui recebida da melhor forma e rapidamente integrada na equipa, tendo-me sido dada a oportunidade de exercer a maioria das atividades desenvolvidas pelos colaboradores da FM. Desde o primeiro dia fui tratada como membro da equipa com responsabilidades a desempenhar. Este aspeto revela assim a confiança que é depositada em nós estagiários e nos conhecimentos com que saímos da FFUC no final de cinco anos de aprendizagem.

2.1.4 Horário alargado

A FM pratica um horário alargado das 8h até às 21h, não encerrando à hora de almoço e encontra-se também aberta aos sábados das 9h até às 13h. Este ponto, a meu ver, representa uma grande vantagem na medida em que permite que a farmácia esteja

ao dispor dos utentes em horas que não interfiram com os horários laborais. Assim, os utentes têm disponível um serviço ajustado aos mais variados horários e rotinas sem prescindir de tarefas pessoais ou prejudicar a sua responsabilidade laboral para terem que se deslocar à farmácia^{6,7}.

Para a FM existem também vantagens que se retiram deste ponto como o maior número de atendimentos e a demonstração de uma maior disponibilidade face aos seus utentes. Este é um ponto forte que se manifestava pelo número de atendimentos que eram efetuados após as 19h e durante as manhãs de sábado.

2.1.5 Equipa

Um dos aspetos que torna a FM uma farmácia com uma forte posição é a diversidade da sua equipa. Por um lado, os profissionais com larga experiência imprimem credibilidade à farmácia. Os utentes sabem os nomes dos farmacêuticos, confiam no seu conhecimento, aconselhamento e dirigem-se à farmácia, quer pessoalmente quer via telefone para um atendimento específico. Por outro lado, os profissionais mais jovens que constituem a equipa imprimem mais dinamismo à farmácia, contribuem com novas ideias e com novos conhecimentos. Uma vez que a área de conhecimento em saúde está em constante atualização é importante, face à competitividade neste ramo, que a farmácia se mantenha sempre na vanguarda do conhecimento no que toca ao aconselhamento e atendimento ao utente⁸.

2.1.6 Indicação Farmacêutica

As Boas Práticas em Farmácia Comunitárias descrevem a Indicação Farmacêutica como o «ato profissional pelo qual o farmacêutico se responsabiliza pela seleção de um medicamento não sujeito a receita médica e/ou indicação de medidas não farmacológicas, com o objetivo de aliviar ou resolver um problema de saúde considerado como um transtorno menor ou sintoma menor, entendido como problema de saúde de carácter não grave, autolimitante, de curta duração, que não apresente relação com manifestações clínicas de outros problemas de saúde do doente»⁹.

Este é um ato praticado diariamente na FM dado vários aspetos. Em primeiro, porque se trata de uma farmácia que preza por oferecer um atendimento/serviço completo. Em segundo lugar, graças aos farmacêuticos que constituem a equipa e que contam com vários anos de experiência, o que lhes confere um arsenal indiscutível de indicações

farmacêuticas ao longo dos anos que tem como característica terem lidado com as mais variadas situações para dar resposta. Em último lugar não se pode descurar que a parte da equipa jovem é provida de iniciativa e pensamento dirigido para a alternativa com ensinamentos recentes que podem, em determinados casos, ser a melhor resposta face aos avanços na saúde.

2.1.7 Atividades de Gestão em Farmácia Comunitária

Os primeiros dias de estágio foram caracterizados por aprendizagem e aplicação da mesma ao nível da gestão em farmácia comunitária, nomeadamente: receção e armazenamento de medicamentos e outros produtos de saúde, verificação de validades dos produtos, gestão do stock, contacto com armazenistas, elaboração de encomendas manuais, observação da elaboração de encomendas diárias pelo diretor técnico e regularização de devoluções.

Estas tarefas permitiram-me melhorar o meu sentido de rigor e organização e deram-me o à vontade para conhecer o *back office* da farmácia, que julgo ser uma base que deve ser solidificada antes de iniciar o atendimento ao público.

No entanto, é necessário referir que, relativamente à gestão do stock, esta aprendizagem foi efetivamente um ponto forte, mas não suficiente para colmatar a falta de conhecimento prático para a realização, a título de exemplo, de encomendas de produtos sazonais. Estas são encomendas feitas com alguns meses de antecedência relativamente ao período em que a compra desses produtos é mais significativa. Para da melhor forma gerir essas encomendas é necessário avaliar alguns aspetos como o número de unidades vendidas no ano anterior, as tendências de consumo dos utentes, as margens de comercialização, entre outros².

Posto isto, é possível perceber que as atividades de gestão de uma farmácia requerem conhecimentos que vão muito além daqueles que são os do MICF. São necessárias valências relacionadas com a área da gestão e economia pois a farmácia requer sustentabilidade financeira para poder estar ao serviço dos utentes. Daqui surge possivelmente uma explicação para as informações publicadas relativas ao aumento de insolvências e penhoras nas farmácias. Foi em agosto de 2016 que circulou a informação de que um quinto das farmácias em Portugal tinham sofrido insolvência ou penhora. Mais ainda, acrescentava que no período de cerca de três anos e meio estes casos tinham sofrido um aumento de 132%¹⁰ (**Figura 2**). Em 2017 as informações confirmavam um

grande número de farmácias na mesma posição que em 2016, referindo um aumento de 145.2% nos últimos cinco anos, relativo a insolvências e penhoras de farmácias¹¹. Foi referido o ano de 2017 como aquele em que esta crise agravou, atingindo 630 farmácias aquando da publicação da informação¹².

2.1.8 Protocolos

Mantém-se atualmente em vigor um protocolo da FM com a Liga Portuguesa Contra o Cancro (LIGA) dada a proximidade da farmácia ao Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil. No referido protocolo celebrado, a LIGA compromete-se a compartilhar parte ou a totalidade da despesa dos medicamentos dos seus utentes mediante a apresentação na FM de um documento elaborado pela LIGA o qual refere a receita abrangida pela comparticipação e o limite de comparticipação da mesma. Cabe à FM a dispensa dos medicamentos, aconselhamento e creditação do montante à LIGA. Este ato permite assim aos utentes o acesso gratuito ou em menor valor de despesa dos seus medicamentos. Este ato beneficia os utentes e permite aos farmacêuticos da FM prestar um serviço de acompanhamento aos utentes uma vez que a passagem pela FM se torna recorrente.

Face à preocupação crescente com a gestão de resíduos e, por sua vez, com o ambiente, foi criada em 1999 uma associação sem fins lucrativos, a VALORMED, cuja responsabilidade passa exatamente pela gestão de resíduos no que se trata de medicamentos fora de uso e também embalagens vazias¹³. É com esta associação que a FM também celebra um protocolo. O processo passa pela disponibilização, pela VALORMED, de um contentor que é colocado na FM onde os utentes podem colocar os seus medicamentos fora de uso e embalagens vazias. Dado tratar-se de resíduos com características diferentes, a embalagem quando cheia, é recolhida pelos distribuidores de medicamentos sob controlo farmacêutico. O processamento destes contentores é posteriormente feito em Centros de Triagem adequados¹⁴. Este protocolo, para além do fim ambiental, também serve o propósito de impulsionar a entrada de utentes na farmácia que se reflete numa possibilidade de venda por observação dos produtos expostos, levando à compra por impulso, ou por interação do utente com algum elemento da equipa. **(Figura 3)**

Por fim, outro protocolo que a FM celebra é com as Farmácias Portuguesas das quais faz parte, aderindo ao Cartão Saúde. Este cartão funciona como um meio de fidelização

do utente ao grupo das Farmácias Portuguesas e a partir do qual os utentes retiram vantagens através da acumulação de pontos aquando da dispensa de medicamentos e produtos de saúde e bem-estar. Pontos estes que podem ser trocados por produtos, serviços na farmácia ou vales¹⁵. Como característica de um cartão de fidelidade, este faz com que o utente tenha tendência a voltar e mais ainda, a escolher uma Farmácia Portuguesa em detrimento de outra onde não tire vantagens de um cartão deste género.

2.1.9 Formações

O mundo das ciências da saúde é, sem dúvida, um mundo em constante evolução como anteriormente referido. Cabe assim ao farmacêutico estar atualizado ao nível científico, tal como consta no Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos (CDOF)⁸.

Ao longo da minha passagem pela FM, tive a oportunidade de assistir a formações ministradas quer por representantes das marcas dos produtos, quer por delegados de informação médica, tanto na farmácia como fora da mesma. A maioria das formações estava relacionada com produtos de cosmética, o que considero uma mais valia para o meu estágio na medida em que colmatou algumas das minhas dúvidas na área. Assim, graças a estas formações recebi a informação necessária para melhor desempenhar o meu papel no aconselhamento farmacêutico quando tive a oportunidade de fazer atendimento ao público.

Referindo de forma mais específica alguns dos temas das formações posso falar na formação sobre contraceção hormonal feminina e acne, na formação sobre proteção solar e na formação sobre esporão calcâneo e *hallux valgus*, para além das que estavam relacionadas com cosmética.

2.1.10 Trabalho por Objetivos

Uma vez integrada na equipa e cumprindo responsabilidades tal como os restantes elementos, também eu trabalhei com os farmacêuticos e técnico auxiliar por forma a alcançar objetivos estipulados tanto para cada um de nós como para a equipa. Uma vez que à concretização desses objetivos está associado uma remuneração, esses mesmos objetivos fomentam o empenho, dedicação e vontade de «fazer mais» aliados sempre ao bem-estar e às necessidades dos utentes.

Deste modo, este ponto é uma força na medida em que funcionou como uma alavanca para a motivação diária levando a que cada pessoa da equipa tivesse mensalmente obstáculos a ultrapassar. Isto na medida em que os objetivos estavam relacionados com a dispensa de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) para os quais essa mesma dispensa é feita através do aconselhamento farmacêutico indo ao encontro daquilo que são as necessidades do utente. Ou seja, cada colaborador teria que pôr em prática os seus conhecimentos de modo a, da melhor forma, aconselhar o utente, responder ao seu pedido e trabalhar em prol do objetivo traçado.

2.1.11 Fidelização de Utentes

Reunindo vários fatores como a longa data de existência, a localização e o serviço prestado à comunidade, a FM orgulha-se de poder contar com um grande número de clientes fidelizados. Estes correspondem aos utentes que regularmente consultam os farmacêuticos e técnico auxiliar da FM e que têm esses profissionais e esta farmácia em conta quando se trata da sua saúde.

A fidelização dos utentes, para além de ser marcada por uma grande responsabilidade, uma vez que esta relação requer esforços por parte da farmácia para ser mantida, ou seja, para que os utentes continuem a preferir a FM e vejam nesta sua escolha vantagens, é um ponto no qual vejo aspetos positivos. Uma vez que a presença desses utentes na farmácia é regular, permite que se criem fichas do utente às quais ficam associados os medicamentos e produtos de saúde e bem-estar pela FM dispensados ao utente. Fazendo isto, é possível acompanhar as necessidades do utente da melhor forma uma vez que permite à farmácia gerir de forma mais específica o seu stock para que tenha sempre no seu sortido os medicamentos e produtos que são de consumo habitual do utente. O facto de a FM ter estes utentes que conhece bem e que lhe permitem uma melhor gestão do stock possibilita também que a mesma possa ajudar o utente na escolha do laboratório de medicamentos genéricos, tendo ao seu dispor aqueles cujo valor vai ao encontro das possibilidades do utente. Igualmente importante, permite um acompanhamento terapêutico do doente. Isto porque, através do histórico de dispensa é possível verificar o perfil do utente, quais as suas patologias e criar notificações para sugerir, por exemplo, medição do colesterol. Esta atenção que é dada será sempre vista como um ato de preocupação para com a saúde do utente, cria empatia e reforça a dita relação de fidelização com a farmácia.

2.2 Fraquezas (*Weaknesses*)

2.2.1 Medicamentos Manipulados

Um medicamento manipulado é entendido como «qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico»¹⁶ e, por sua vez, «Considera-se manipulação de medicamentos a preparação de medicamentos, tanto para uso humano como veterinário, que envolvam as atividades de preparação, mistura, combinação modificação, reembalagem ou re-rotulagem de substâncias ativas, medicamentos ou dispositivos de administração. A manipulação poderá decorrer da receção de uma prescrição médica ou no seguimento de uma antecipação ou continuidade terapêutica estabelecida em concordância com o médico e utente, bem como decorrentes da necessidade de indicação farmacêutica»¹⁷.

Do espaço referido como fazendo parte da FM, foi descrito o laboratório, espaço destinado a preparações extemporâneas e de medicamentos manipulados. Durante o estágio houve oportunidade para realizar preparações extemporâneas (antibióticos sob a forma de xarope). No entanto, dado não ser uma prática comum na FM, não encontrei oportunidade de preparar um medicamento manipulado, sendo assim uma fraqueza relativa ao tempo passado na farmácia. Isto porque, graças às aulas de Farmácia Galénica do MICEF, adquiri conhecimentos e capacidades para a realização de manipulados que tinha vontade de voltar a pôr em prática em contexto de prática profissional.

2.2.2 Medicamentos de Uso Veterinário

Visto que a FM se localiza numa zona da cidade de Coimbra caracterizada por um ambiente familiar, o cão e o gato são os animais domésticos mais comuns relativamente aos quais os utentes recorrem à farmácia, quando necessário. Posto isto, é de notar que a oferta da farmácia no que toda a medicamentos de uso veterinário (MUV) seja reduzida, compreendendo maioritariamente antiparasitários internos e externos e contraceção para esses animais.

A justificação para que o stock de MUV fosse reduzido foi citado, no entanto, considero este ponto uma fraqueza na medida em que, na zona onde habito, sendo rural, a oferta de uma farmácia no que toca a estes medicamentos será certamente maior e mais variada dada a existência de uma maior variedade de animais nessa mesma zona.

Caso tivesse surgido a oportunidade de ver consolidados os meus conhecimentos na área, seria certamente um ponto a meu favor caso quisesse exercer a profissão na minha área de residência.

Na minha passagem pela FM pude apenas dispensar antiparasitários internos e externos como MUV.

2.2.3 Receita Manual

Existindo na periferia do meu local de estágio diversos consultórios médicos privados, a prescrição através de receita manual foi uma realidade diária com a qual me deparei na FM e que até ao momento não me tinha sido apresentada de forma que não a título de exemplo. Isto justificado pelo facto de, nos anos em que realizei os estágios de verão, a receita eletrónica era a realidade mais praticada. Este ponto foi para mim uma fraqueza. Isto porque, apesar de me ter sido lecionado no percurso do MICF como interpretar e realizar a dispensa de medicamentos prescritos em receita manual, senti algumas dificuldades na parte da interpretação da escrita do medicamento prescrito e na inserção do código dos subsistemas de participação complementar. Por forma a realizar a dispensa de forma correta assim como a introdução do código de subsistema de participação correto, tive várias vezes que recorrer à ajuda dos farmacêuticos e técnico auxiliar da FM. Apesar de entender a minha posição como estagiária que se encontra ainda em processo de aprendizagem de algumas práticas na farmácia comunitária, o facto de depender de ajuda neste ponto faz com o que o atendimento seja mais demorado, o que leva por vezes à agitação por parte dos utentes.

2.3 Oportunidades (*Opportunities*)

2.3.1 Público Jovem

Como referido anteriormente, celas é em Coimbra uma zona privilegiada no que toca a serviços médicos e de saúde. Deste facto resulta que na mesma se encontrem várias instituições de ensino da área da saúde como a FFUC, Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Coimbra, Escola Superior de Enfermagem e, para além destas, a Escola Superior Miguel Torga, que fazem com que exista uma grande população jovem na zona.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define o conceito de saúde como «um estado de completo bem-estar físico, mental e social e não somente a ausência de

doenças ou enfermidades»¹⁸. Ou seja, por forma a que uma pessoa vá ao encontro de um pleno estado de saúde, pode recorrer à farmácia para a aquisição de produtos de bem-estar físico, mental ou social, para além do propósito da dispensa de medicamentos para o tratamento de doenças. O público jovem será aquele que, menos afetado por patologias, irá à farmácia em busca de produtos que cumpram o objetivo do seu bem-estar nos seus diversos níveis. Como exemplo, um aluno que vá brevemente passar por um período de desgaste psicológico relacionado com uma época de estudo mais intensivo pode dirigir-se à farmácia para que lhe seja aconselhado um suplemento que atue na reposição de energias, um tónico cerebral, e também, para que se consiga abstrair do ruído de fundo para conseguir uma maior concentração no estudo, uns tampões para os ouvidos. Daqui surge a oportunidade de realizar aconselhamento farmacêutico que irá certamente culminar numa venda de produtos que estão relacionados com o bem-estar físico e mental. A partir desta situação podem-se sugerir outras tantas que permitem perceber o potencial de venda de MNSRM (Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica) naquilo se que refere a visitas à farmácia por parte da população jovem não afetada por patologias que requeiram somente tratamento através de medicamentos sujeitos a prescrição médica.

Posto isto, o sortido da farmácia pode ser gerido por forma a que neste se encontrem produtos de saúde e bem-estar que permitam que um atendimento do género daquele supracitado termine sempre com a venda.

2.3.2 Metodologia Kaizen

Durante o meu estágio na FM, como membro da equipa, presenciei reuniões e tive tarefas e responsabilidades decorrentes do Projeto da Academia Glintt[®] que veio implementar a Metodologia *Kaizen* na FM. Esta metodologia tem por objetivo inculcar o espírito da melhoria contínua.

Kai significa mudar e *Zen* significa melhor, em conjunto formam a palavra de origem japonesa *Kaizen*, que dá nome à filosofia. A aplicação desta na farmácia apenas é possível se todas as pessoas da equipa mantiverem o foco na melhoria contínua, empregando o empenho em todas as suas áreas de atividade na farmácia, todos os dias¹⁹.

Sendo esta filosofia possível de ser aplicada tanto no campo profissional como pessoal, julgo ser uma grande oportunidade que o estágio na FM me proporcionou. A visão não só do foco na melhoria, mas que esta seja aplicada numa base diária constante

criou um pilar que certamente não se irá derrubar e será aplicado ao longo da minha vida.

2.3.3 Receita Sem Papel

A receita sem papel permite que, mesmo que o utente se tenha esquecido da prescrição, este possa sempre contactar alguém que lhe possa facultar o número da guia de tratamento, o código de acesso e o código de direito de opção ou, em última instância se não conseguir obter os dados necessários de nenhuma forma, a farmácia pode ajudar o utente a inscrever-se no portal do Sistema Nacional de Saúde (SNS) de modo a aceder às suas prescrições e assim conseguir adquirir os medicamentos que necessita.

Esta nova realidade de prescrição vai ao encontro das orientações do SNS que referem a necessidade de uma melhor acessibilidade do utente ao medicamento. Assim, a receita sem papel permite uma maior segurança na emissão e dispensa da mesma para os utentes e para os profissionais e permite também que os utentes recebam o guia de tratamento quer via e-mail, papel, telemóvel ou através de uma consulta na área do cidadão, se o utente estiver registado²⁰. Ou seja, a receita sem papel vem assim permitir um acesso facilitado à mesma, uma poupança nos materiais de impressão visto poder ser enviada para o e-mail ou telemóvel e a mesma pode ser dispensada em momentos diferentes, não prendendo o utente à obrigação de pedir a dispensa da totalidade da receita, se não o pretender²⁰.

2.3.4 Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

Esta categoria de medicamentos, a meu ver, representa uma oportunidade no que toca aos farmacêuticos presentes na FM assim como a mim enquanto estagiária. Isto porque, a dispensa da maioria destes medicamentos não é exclusiva das farmácias, ou seja, podem ser vendidos em locais de venda de MNSRM, desde que estes locais estejam autorizados devidamente para o efeito pela autoridade competente²¹. Assim, os farmacêuticos, como profissionais especialistas do medicamento podem fazer-se valer do seu conhecimento para da melhor forma avaliar as necessidades do utente e aplicar esse mesmo conhecimento aquando da dispensa do MNSRM. Fazendo assim ver a diferença entre a compra deste tipo de produtos numa farmácia, onde a mesma é acompanhada de um aconselhamento adequado e nos restantes locais de venda dos mesmos produtos.

Acreditando que um aconselhamento de excelência incrementa a confiança do utente no profissional, surge daqui a motivação para crer que o utente, na hora de escolher o local de aquisição do MNSRM, escolha a farmácia em detrimento de outras opções. Por forma a corroborar esta hipótese, os dados do INFARMED, Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P. relativos à monitorização das vendas dos MNSRM fora das farmácias no período de janeiro a dezembro de 2017 indicam que apenas 20% do volume total de MNSRM são vendidos fora das farmácias. Significa assim que 80% do volume total de MNSRM são efetivamente vendidos nas farmácias²². **(Figura 4)** Dada a dificuldade de as farmácias conseguirem competir a nível de preços com os locais de venda de MNSRM, os resultados, tanto desta como de monitorizações anteriores permitem confirmar a valorização do aconselhamento farmacêutico na venda de MNSRM por parte do utente.

2.4 Ameaças (*Threats*)

2.4.1 Receita Sem Papel

Apesar da receita sem papel ter já sido identificada como uma oportunidade, a verdade é que pode também tratar-se de uma ameaça na medida em que permite ao utente adquirir apenas uma unidade de cada medicamento ou produto de saúde prescrito se assim o desejar. Esta liberdade de aquisição que a receita sem papel trás, veio garantir ao utente a possibilidade de aviar a receita parcialmente em diferentes momentos, em diferentes farmácias. Isto constitui uma ameaça porque quando os medicamentos ou produtos de saúde de uma receita não são adquiridos na totalidade no momento do atendimento, nada nos garante que aquela prescrição retorna à nossa farmácia. Devemos, portanto, minimizar esta ameaça e usar estratégias para conduzir o utente a adquirir o máximo de unidades possíveis ou até, idealmente, a prescrição completa. Para isso devemos estar atentos aos seguintes fatores:

- i. **Medicamentos cuja validade de prescrição é curta ou está prestes a terminar** – Nas receitas sem papel podem coexistir prescrições com validade de 30 dias e 6 meses. Quando verificamos esta coexistência devemos sempre alertar o utente para esta situação pois é frequente por parte do mesmo o esquecimento dos medicamentos com menor validade de prescrição. Devemos também alertá-lo que para além do(s) medicamento(s) solicitados existe(m) outro(s) cuja validade de prescrição termina em poucos dias. Outra possibilidade

da farmácia se diferenciar é alertar o utente quando a validade de uma prescrição vai terminar, a partir de uma chamada telefónica ou de uma mensagem escrita. Este serviço, embora acarrete mais uma tarefa à farmácia, pode ser um instrumento para conseguir que o utente volte à nossa farmácia e até de o fidelizar.

- ii. **Medicamentos compartilhados na totalidade** – quando no momento da cedência de medicação nos deparamos que determinado medicamento não terá custos para o utente devemos informá-lo e questionar se não quer adquirir a totalidade de embalagens prescritas. Uma vez que os preços dos medicamentos sofrem oscilações e revisões de participação regularmente, o utente deve ser informado de que um medicamento compartilhado na totalidade este mês pode não o ser no mês seguinte.
- iii. **Medicamentos de baixo custo para o utente** – por vezes quando os medicamentos têm um baixo custo para o utente, ele opta por levar mais do que uma unidade do mesmo. Vê-se aqui uma oportunidade para, enquanto garantimos que o utente tem o medicamento que precisa, também a farmácia beneficia com a dispensa dos medicamentos na totalidade.
- iv. **Medicamentos cujo número total de unidades da forma farmacêutica (comprimidos, cápsulas, etc.) é pequeno** – Uma vez que existem medicamentos com um número pequeno de comprimidos ou cápsulas (10, 14 ou 20 unidades) devemos informar o utente que uma embalagem apenas permitirá o tratamento para um determinado espaço de tempo. Quando estamos perante embalagens com mais unidades (por exemplo, 60 unidades) devemos tentar perceber qual a posologia que o utente realiza. Caso realize, a título de exemplo, uma unidade 3 vezes ao dia, então uma embalagem não será suficiente para garantir o tratamento durante um mês. Para além destas situações existe aquela na qual devemos tentar garantir que medicamentos para patologias crónicas andam acertados no sentido de os vários medicamentos garantirem o tratamento para o mesmo período de tempo. Por exemplo, o utente pretende adquirir uma embalagem do medicamento A que contém 28 comprimidos e outra do medicamento B que contém 56 comprimidos. Ambos os medicamentos são tomados com a posologia de um comprimido uma vez ao dia. Então devemos lembrar ao utente que o medicamento A vai terminar primeiro e questionar

se não pretende adquirir duas embalagens do medicamento A por forma garantir o mesmo tempo de tratamento que o medicamento B. Esta última situação específica pode no entanto não ser tão facilmente aceite pelo utente uma vez que pode implicar o pagamento de um valor consideravelmente mais elevado por parte do mesmo. Contudo, cada utente é um caso e nós devemos sempre expor ao mesmo as sugestões supracitadas e deixar ao cargo do mesmo a decisão de as aceitar ou não.

Frequentemente, a aplicação das técnicas de venda referidas, não só proporcionam o aumento do volume da venda, e conseqüente aumento da fatura da farmácia, como também causam agrado nos utentes porque a verdade é que as sugestões apresentadas permitem também precaver as pessoas de acontecimentos que causam transtorno (como é o caso de deixar passar a validade de uma prescrição ou terminar uma embalagem de um medicamento para uma patologia crónica) e permitem vantagens para o utente, como é levar mais unidades de medicação sem custos ou a um baixo custo.

2.4.2 Serviços Gratuitos

Diariamente, prestam-se na FM serviços como a determinação da glicémia e medição da pressão arterial. Estes são serviços prestados de forma gratuita aos utentes da farmácia.

Este serviço, sendo gratuito, pode funcionar como reforço positivo quando se fala em utentes que são fidelizados e, relativamente aos que não são, exerce o mesmo efeito positivo e ainda favorece uma futura fidelização do mesmo. Os mesmos serviços, ainda que exijam pouco material, não podem ser descurados da execução por um profissional com formação para a mesma e para a interpretação dos resultados. Julgo assim ser necessário ter em conta o investimento que é necessário para a formação dos profissionais em causa e também o valor económico e social das intervenções, avaliadas em milhões de euros, executadas pelos farmacêuticos na farmácia comunitária²³. Por forma a não desvalorizar o profissional e a incentivar a continuação do trabalho, um pagamento deste serviço de forma justa poderia funcionar nesse propósito.

3. Papel do Farmacêutico na Promoção da Adesão à Terapêutica

É inequívoco que o Farmacêutico, abrangendo aquele que desempenha as suas funções na farmácia comunitária, tem um papel de peso aquando da interação e

atendimento ao utente naquilo que se refere à adesão à terapêutica. Facto que é evidenciado pelo apelo da Ordem dos Farmacêuticos (OF) à participação destes profissionais no estudo pela OF promovido que pretende analisar a relação entre a literacia em saúde e adesão à terapêutica²⁴. Mais ainda, no relatório recente da Federação Internacional Farmacêutica (FIP), «*Use of medicines by the elderly. The role of pharmacy in promoting adherence*», é destacada a intervenção na adesão à terapêutica pelos farmacêuticos promovida. No mesmo relatório é citado o seguinte: «Os farmacêuticos têm um papel fundamental na monitorização e na melhoria da adesão dos cidadãos aos medicamentos, tanto como uma única profissão, quanto dentro de uma equipa colaborativa multidisciplinar e centrada no doente»²⁵.

Em 2015, a informação era que a não adesão à terapêutica estava nos 50%. Desta não adesão decorrem consequências como aumento de morbilidade e mortalidade, complicações médicas da doença, probabilidade de resistência aos fármacos, desperdício de recursos de cuidados de saúde, entre outros. Alguns dos motivos desta taxa de não adesão prendem-se com o baixo nível educacional, distância ao local de tratamento, custo elevado da medicação, complexidade do tratamento e efeitos secundários²⁶.

Posto isto, durante o estágio foram várias as situações com as quais me deparei que puseram à prova os conhecimentos que tinha reunido e desenvolvido ao longo dos cinco anos do MICF. Conhecimentos estes que me permitiram tomar parte deste problema como responsabilidade enquanto futura farmacêutica e que apresento agora a título de exemplo da quantidade de informação e experiências que preencheram a bagagem com que deixo a FFUC e a FM.

3.1 CASO I – Fosfomicina para tratamento de infeção das vias urinárias baixas

Uma utente, jovem adulta, dirigiu-se à FM com uma prescrição médica com indicação para a dispensa de Fosfomicina 3g, 1 saqueta. Este fármaco pertence à classe dos antibióticos de largo espectro e é comumente prescrito para situações de prevenção e tratamento de infeções das vias urinárias baixas, quando a bactéria na origem da infeção é sensível à fosfomicina. A minha primeira pergunta incidiu sobre se a utente tinha algum tipo de hipersensibilidade a este antibiótico. Respondeu que não se recordava de alguma vez ter tomado um antibiótico, daí não saber se teria alguma hipersensibilidade. Antes da dispensa, expliquei que a fosfomicina tinha como possível efeito secundário diarreia

e que essa situação provoca alguma perda de líquidos e desconforto²⁷. Aconselhei um complexo com probióticos e prebióticos para promover o equilíbrio da flora intestinal e que a utente bebesse muita água. A hidratação iria ajudar na perda de líquidos decorrente da alteração da motilidade intestinal e também iria ajudar à eliminação das bactérias que estavam a provocar a infeção, expliquei. Por fim, alertei para que a utente não tomasse o fármaco com alimentos. A posologia adequada seria uma hora antes ou duas horas após das refeições dada a possibilidade de alguns alimentos diminuírem a absorção da fosfomicina. Ao deitar, com a bexiga vazia, seria a melhor altura para a toma, referi. Por fim expliquei que a saqueta seria para ser dissolvida num copo de água, o conteúdo homogeneizado e a toma de uma só vez.

3.2 CASO 2 – Tratamento antifúngico para unhas

Uma utente de meia idade dirige-se à FM e é atendida por mim. Explica que há mais de um ano tinha reparado que no pé uma das unhas começou a desenvolver uma mancha amarela atípica e que, essa mesma unha, tinha desenvolvido uma textura diferente das restantes. Tinha para o efeito iniciado um tratamento com um verniz para aplicar diariamente na unha, adequado quando se trata de diagnóstico de onicomicose. Parou o tratamento assim que percebeu que a unha tinha adquirido um aspeto normal e saudável. Acabou explicando que se dirigiu à farmácia pois a mesma unha tinha desenvolvido novamente os sintomas que há mais de um ano a levaram ao início do tratamento. Mostrou-me o pé para que pudesse observar.

Percebi que a patologia anterior não tinha sido corretamente tratada. Informei que o verniz que a utente tinha usado seria realmente a melhor opção de tratamento para a onicomicose, no entanto, este tratamento era extremamente moroso. Exige um cuidado contínuo da unha durante cerca de um ano, por se tratar de uma unha do pé que tem crescimento mais lento e que, esse período é o necessário para que haja uma completa renovação da unha, isenta de fungos. Aconselhei algo que não seria evidentemente novo para a utente, um verniz com limas descartáveis. Expliquei que teria que utilizar uma das limas para eliminar a camada superficial da unha infetada pelo fungo e para aumentar a capacidade de absorção do verniz que é um líquido antifúngico²⁸. Após limar a unha e descartar a lima, passo importante pois a reutilização da lima provocaria um novo contacto da unha com o fungo, deveria proceder à aplicação do verniz. Esta aplicação teria de ser feita todos os dias ao passo que o passo de limar a unha seria

necessário apenas uma vez por semana. Sugeri que a aplicação do líquido antifúngico fosse à noite, para que pudesse ter tempo para que o líquido fosse absorvido pela unha. Por fim, enfatizei que era importante fazer este tratamento durante um ano ainda que a unha após alguns meses pudesse ter aparência saudável.

3.2 CASO 3 – Guia Terapêutico

Entra na FM uma das suas utentes regulares, após consulta médica, para que lhe sejam dispensados os medicamentos presentes nas várias receitas que traz. O atendimento foi feito por mim e, ao longo do mesmo, foi visível a ansiedade e nervosismo da utente. O médico tinha-lhe alterado as dosagens dos vários medicamentos. Tinha receio de não saber como tomar a sua medicação habitual visto que as alterações a tinham deixado confusa, explicou. No seguimento do atendimento, após ir buscar as caixas, perguntei se queria que escrevesse nas caixas as novas posologias para que não houvesse engano. A utente mostrou um guia terapêutico que já possuía há algum tempo e era nesse que colocava as alterações à sua posologia quando o médico assim o indicava. No entanto, referiu que como já tinha feito algumas alterações no mesmo guia, tinha já alguma dificuldade em as perceber. Terminei a dispensa dos medicamentos e sugeri à utente que me acompanhasse ao gabinete onde lhe faria um guia terapêutico com as alterações que o médico tinha sugerido.

Posto isto, foi perceptível a sensação de alívio da utente ao receber o papel onde estavam descritas as novas posologias de forma não confusa e mais perceptível. (**Figura 5**)

Este caso prático que descreve simplesmente a elaboração de um guia terapêutico seguindo as posologias pelo médico indicadas e que estavam presentes nas receitas, não é referido como um caso em que tenha sido requerido algum tipo de conhecimento científico específico. No entanto, e a meu ver, o farmacêutico deve sempre exercer a sua posição no bem-estar do utente e esse bem-estar pode passar por mais do que simplesmente a dispensa do medicamento prescrito. Neste caso, apenas isso não seria suficiente, a utente apenas sentiu conforto após ter conhecimento claro de como iria tomar os seus medicamentos. Deste modo foi possível suprimir todas as necessidades da utente, zelando também pela promoção da adesão à terapêutica que é também uma importante função do farmacêutico.

4. Conclusão

Uma das grandes vantagens que distingue um farmacêutico é certamente a capacidade que este tem para integrar diversas áreas do medicamento. Em todas estas ele tem uma posição marcada, não substituível. Daqui vemos a sua importância no que toca à saúde dos doentes.

Um dos locais onde o farmacêutico é mais próximo do doente é a farmácia comunitária. Nesta o farmacêutico veste a bata para esclarecer as dúvidas dos utentes, para dar o melhor conselho, para da melhor forma dar resposta às necessidades e procuras do utente. Posiciona-se entre o utente e o medicamento para permitir que a dispensa do mesmo seja a melhor e mais segura. Esta visão surge no culminar da minha passagem pelo estágio curricular em farmácia comunitária onde pude exercer estas atividades e inteirar-me das responsabilidades que me são exigidas após cinco anos de ensinamentos teóricos e práticos na FFUC. As lições que recebi na FM agradeço-as pois tornaram-me uma profissional com confiança nas suas ações. Acredito também que as minhas opiniões e sugestões foram ouvidas, aceites e praticadas. Motivo pelo qual me sinto realizada por perceber que, mesmo estando apenas presente estagiária e a realizar funções como tal, consigo dirigir o pensamento de forma estratégica e orientada para as funções de farmacêutico em farmácia comunitária. Posso assim dizer que o estágio corresponde ao momento no qual enfrentamos a realidade que durante anos nos foi advertida e para a qual fomos preparados.

A farmácia, dada a conjuntura económica que se atravessa a nível nacional, depara-se com desafios diários, mas é neste sentido que a mesma é posta à prova e à qual é exigida maior competitividade e maior capacidade por forma a singrar. A melhoria não vale por si só num ato isolado, mas sim como uma meta contínua para a qual todos os farmacêuticos concorrem.

Dada toda a envolvimento requerida no atendimento ao utente, espera-se do farmacêutico por detrás do balcão a paciência, a atenção e disponibilidade para o doente. No entanto as suas tarefas não ficam por aí. Deste também se espera a capacidade de gestão da farmácia, organização e legislação relacionada com a mesma e o marketing envolvido no sortido que esta tem a dar ao público. Ou seja, as atividades possíveis de ser realizadas pelo farmacêutico foram ao longo dos anos passando por uma maior abrangência e sofisticação que levam a que, hoje em dia, esta seja uma profissão completa.

5.Referências Bibliográficas

1. GHAZINOORY, S., ABDI, M. and AZADEGAN-MEHR, M. - **SWOT Methodology: A State-of-the-Art Review for the Past, A Framework for the Future.** *J. Bus. Econ. Manag.* ISSN 1611-1699. 12:1 (2011). 24–48 doi:10.3846/16111699.2011.555358
2. DE AGUIAR, A. H. - **Boas Práticas de Gestão na Farmácia.** 2ª Ed. Lisboa: Hollyfar, 2012. ISBN: 978-989-96318-4-7
3. BARROS, P. P., MARTINS, B. and MOURA, A. - **Evolução do sector das farmácias – revisitar o estudo “ A situação concorrencial no sector das farmácias ” de 2005.** Lisboa: Nova School of Business and Economics, 2012. [Consultado a: 25 de agosto de 2018 às 14:03h] Disponível na Internet: <https://momentoseconomicos.files.wordpress.com/2012/07/margensfarmc3a1cias2012.pdf>
4. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Boas Práticas de Farmácia Comunitária - Norma geral sobre as infraestruturas e equipamentos.** Lisboa: Ordem dos Farmacêuticos, 2015.
5. WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Annex 8: Joint FIP / WHO guidelines on good pharmacy practice : standards for quality of pharmacy services.** WHO technical report series, No. 961, 45th report of the WHO Expert Committee on specifications for pharmaceutical preparations, WHO 2011.
6. Decreto-Lei n.º 307/20177, de 31 de Agosto - Regime Jurídico das Farmácias de Oficina. **Diário da República**, n.º168/2007, Série I, de 31 de agosto de 2007.
7. Decreto-Lei n.º 7/2011, de 10 de Janeiro - Dispõe que a abertura de farmácias se pode fazer vinte e quatro horas por dia, sete dias por semana, em articulação com o regime de turnos, alterando o Decreto-Lei n.º 53/2007, de 8 de março. **Diário da República**, n.º6/201, Série I, de 10 de janeiro de 2011.
8. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos.** Capítulo III, Seção I, Artigo 12º - Dever de actualização técnica e científica. Ordem dos Farmacêuticos, 1998.
9. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Boas práticas de farmácia comunitária - Norma específica sobre indicação farmacêutica.** Lisboa: Ordem dos Farmacêuticos, 2018.
10. VEIGA, P. - Insolvência ou penhora atinge uma em cada cinco farmácias. *Revista*

- Saúda* (agosto. 2016). [Consultado a: 20 de agosto de 2018 às 18:58h]. Disponível na Internet: <https://www.revistasauda.pt/noticias/Pages/Insolvencia-ou-penhora-atinge-559-Farmacias.aspx>
11. COSTA, M. J. - 591 farmácias em insolvência ou penhora. *Revista Saúda* (junho. 2017) [Consultado a: 21 de agosto de 2018 às 14:34h] Disponível na Internet: <https://www.revistasauda.pt/noticias/Pages/591-farmacias-em-insolvencia-ou-penhora.aspx>
 12. LUSA - Número de farmácias em insolvência mais do que triplicou em cinco anos. *Público* (janeiro. 2018) [Consultado a: 20 de agosto às 20:17h] Disponível na Internet: <https://www.publico.pt/2018/01/10/sociedade/noticia/numero-de-farmacias-em-insolvencia-mais-do-que-triplicou-em-cinco-anos-1798803>
 13. VALORMED SOCIEDADE GESTORA DE RESÍDUOS DE EMBALAGENS E MEDICAMENTOS, LDA. **VALORMED - Quem somos**. [Consultado a: 21 de agosto de 2018 às 21:56h] Disponível na Internet: <http://www.valormed.pt/paginas/2/quem-somos/>.
 14. VALORMED SOCIEDADE GESTORA DE RESÍDUOS DE EMBALAGENS E MEDICAMENTOS, LDA. **VALORMED - Processo**. [Consultado a: 21 de agosto de 2018 às 22:13h] Disponível na Internet: <http://www.valormed.pt/paginas/8/processo>
 15. FARMÁCIAS PORTUGUESAS - **Como Funciona o Cartão Saúda**. (2018) [Consultado a : 21 de agosto de 2018 às 22:45h] Disponível na Internet: <https://www.farmaciasportuguesas.pt/sauda/como-funciona>.
 16. Decreto-Lei n.º 95/2004, de 22 de abril - Regula a prescrição e a preparação de medicamentos manipulados. **Diário da República** n.º 95/2004, Série I-A de 22 de abril de 2004.
 17. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Boas práticas de farmácia comunitária - Norma específica sobre manipulação de medicamentos**. Lisboa: Ordem dos Farmacêuticos, 2018.
 18. WHO - **About WHO**. (2018) [Consultado a: 20 de agosto de 2018 às 23:34h] Disponível na Internet: <http://www.who.int/about/mission/en/>.
 19. GUERRA, H. C. - **A Filosofia Kaizen como metodologia de Gestão baseada na Melhoria Contínua Estudo de caso: Principais impactos nos Recursos Humanos envolvidos em Sessões Kaizen**. Covilhã: Universidade da Beira Interior, 2010.
 20. MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Receita sem papel**. (2016) Serviços Partilhados do

- Ministério da Saúde, E.P.E [Consultado a: 27 de julho de 2018 às 13:46h]
Disponível na Internet: <http://spms.min-saude.pt/product/receita-sem-papel/>.
21. Decreto-Lei n.º 134/2005 de 16 de Agosto - Estabelece o regime da venda de medicamentos não sujeitos a receita médica fora das farmácias. **Diário da República** n.º 156/2005, Série I-A de 16 de agosto de 2005.
 22. INFARMED - **Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM) Monitorização das vendas fora das farmácias**. Lisboa: Infarmed, 2017. [Consultado a 21 de agosto de 2018 pelas 17:16h] Disponível na Internet: <http://www.infarmed.pt/documents/15786/2210525/janeiro+a+dezembro/53e03bcd-4530-42ed-9114-d00190d0c4dd?version=1.0>
 23. EXIGO – **Valor social e económico das intervenções em saúde pública dos farmacêuticos nas farmácias em Portugal**. In: Congresso Nacional da Ordem dos Farmacêuticos, Lisboa. Mais saúde: O Nosso Compromisso de Sempre. Lisboa: EXIGO, 2015.
 24. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **OF promove estudo sobre literacia em saúde e adesão à terapêutica**. Lisboa: Ordem dos Farmacêuticos, 2018. [Consultado a: 23 de agosto de 2018 às 17:31h] Disponível na Internet: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/noticias/of-promove-estudo-sobre-literacia-em-saude-e-adesao-a-terapeutica/>.
 25. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Relatório da FIP destaca o contributo farmacêutico na promoção da adesão à terapêutica**. Lisboa: Ordem dos Farmacêuticos, 2018. [Consultado a: 23 de agosto de 2018 às 17:47h] Disponível na Internet: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/noticias/relatorio-da-fip-destaca-o-contributo-farmacaceutico-na-promocao-da-adesao-a-terapeutica/>.
 26. LOURENÇO, H. - Adesão à Terapêutica. *Atlas da Saúde (2015)* [Consultado a: 23 de agosto de 2018 às 18:28h] Disponível na Internet: <http://www.atlasdasaude.pt/publico/content/adesao-terapeutica>.
 27. INFARMED - **Resumo das características do medicamento: Fosfomicina Monuril® 3g granulado para solução oral**. Lisboa: Infarmed, 2016. [Consultado a 27 de julho de 2018 às 21:06h] Disponível na Internet: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=5725&tipo_doc=rcm

28. SCHOLL - **Tratamento para unhas ANTIFÚNGICO**. Reckitt Benckiser, 2016. [Consultado a: 27 de julho de 2018 às 22:14h] Disponível na Internet: <http://www.scholl.pt/cuidado-do-pe/unhas-perfeitas/tratamento-para-unhas-antifungico/>

6. Anexos



Figura 1 Novas instalações da Farmácia Machado (Fonte: A autora. Julho de 2018)

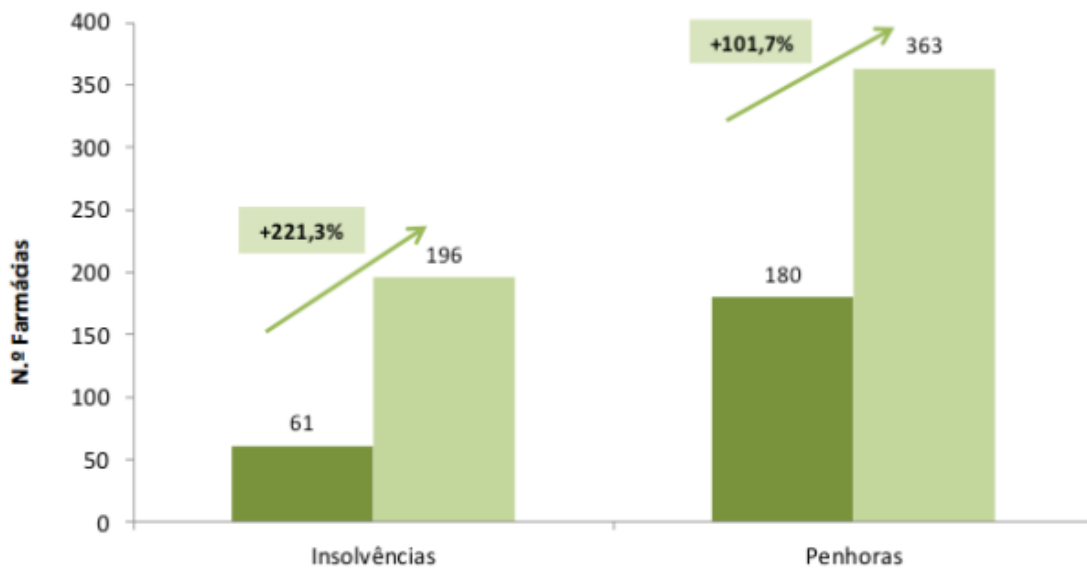


Figura 2 Aumento do número de farmácias em insolvência ou penhora de dezembro de 2012 a julho de 2016. (Fonte: <https://www.revistasauda.pt/noticias/Pages/Insolvencia-ou-penhora-atinge-559-Farmacias.aspx>, 2016)



Figura 3 Contentor VALORMED na FM (Fonte: A autora. Julho de 2018)

		Embalagens	Valor PVP (Euro)	Representatividade (%)	
				Volume	Valor
	TOTAL	40 941 780	303 800 074	16%	12%
MNSRM	Farmácias	32 571 486	252 600 772	80%	83%
	Fora das Farmácias	8 370 294	51 199 302	20%	17%
Mercado Total de Ambulatório		248 197 781	2 606 474 307		

Figura 4 Enquadramento de MNSRM no mercado total de medicamentos (Fonte: <http://www.infarmed.pt/documents/15786/2210525/janeiro+a+dezembro/53e03bcd-4530-42ed-9114-d00190d0c4dd?version=1.0>, 2018)

Medicamento	Jeju	Peq. Almoço	Almoço	Lonche	Jantar	Deitar
Eutirox 0,075	1cp					
Zacator 20					1cp	
Metformina 1000		1cp			1cp	
Procozalen 5		0,5cp			0,5cp	
Victoza			1,2mg			
Fozxiga		1cp				
Lozenin 2,5 (+ 0,5 em SOS)		1cp	0,5cp	1cp	0,5cp	1cp
Abielify 15		1cp	1cp			
ADT 25		1cp			1cp	
Haedoc					0,5cp	1cp
Alprazolam LM 1		1cp		1cp		1cp

Figura 5 Guia Terapêutico (Fonte: A autora. Julho de 2018)

PARTE II: Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Bluepharma



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

*«Qualidade é desenvolver, projetar,
produzir e comercializar um produto de
qualidade que é mais económico, mais útil e
sempre satisfatório para o consumidor/utente»*

in Controlo da qualidade total

Kaoru ISHIKAWA, 1993

Agradecimentos

À equipa do Laboratório de Microbiologia, especialmente à Ana Paula e à Marta que depositaram em mim a confiança para que eu pudesse absorver todo o conhecimento que tinham para me dar. Ao seu ombro amigo que me suportou e apareceu para me ajudar.

À Dr.^a Cláudia Gama, diretora do Departamento do Controlo de Qualidade, pela receção, palavras de orientação e especialmente por me ter dado a liberdade de, para além do Laboratório de Microbiologia, enriquecer a minha experiência com a passagem pelo Laboratório Físico Químico.

Abreviaturas

° C	Graus Celsius
CQ	Controlo de Qualidade
CSA	Agar de Caseína e Soja
GMP	Boas Práticas de Fabrico
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IF	Indústria Farmacêutica
LM	Laboratório de Microbiologia
mL	Mililitros
MCA	Agar de MacConkey
MCB	Caldo de MacConkey
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
Ph. Eur	Farmacopeia Europeia
RCS	<i>Reuter-Centrifugal-Sampler</i>
SACA	Agar de Sabouraud Dextrose e Cloranfenicol
SDA	Agar Sabouraud Dextrose
SOPs	<i>Standart Operation Procedures</i>
SWOT	<i>Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats</i>
TAMC	Contagem Total de Microrganismos Aeróbios
TYMC	Contagem Total de Fungos e Leveduras
UFC	Unidades Formadoras de Colónias
USP	Farmacopeia dos Estados Unidos

I. Introdução

O relatório apresentado concretiza a análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*) do estágio curricular realizado na Bluepharma-Indústria Farmacêutica, SA relativa à frequência do estágio, integração da aprendizagem teórica e em contexto simulado na prática profissional e à adequação do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) no que diz respeito às perspetivas profissionais futuras. O estágio foi realizado no âmbito do MICF da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, com início no dia 8 de janeiro de 2018 e término no dia 29 de março de 2018, sob orientação da Dr.^a Cláudia Gama, no Laboratório de Microbiologia (LM) do Departamento de Controlo de Qualidade (CQ).

I.1 Instituição

Iniciando a sua atividade no mês de fevereiro do ano de 2001, a Bluepharma nasce em Coimbra como indústria farmacêutica (IF) a partir da aquisição de uma unidade industrial pertencente à Bayer, multinacional na área do medicamento de origem alemã.

Para além do trabalho dedicado à comercialização do medicamento, esta IF vê os seus esforços distribuídos pelo fabrico, desenvolvimento e investigação de medicamentos. Devido a isto, a sua presença é distinta na comercialização de medicamentos genéricos, na investigação, desenvolvimento, registo e na produção de medicamentos próprios e para terceiros. A produção própria de medicamentos alcança o propósito de oferecer uma qualidade de vida melhorada aos cidadãos em Portugal devido à aposta na qualidade, valor acrescentado do medicamento, inovação dos processos de fabrico e de comercialização dos mesmos.

Ao nível da atividade industrial, a Bluepharma dedica-se à produção de formas farmacêuticas sólidas não-estéreis para uso oral, nomeadamente cápsulas e comprimidos. Não obstante, a Bluepharma recebeu das Autoridades do Medicamento permissão para, também nestas instalações, fabricar produtos de investigação medicinal, supositórios, semissólidos e líquidos. A qualidade é garantida e certificada tendo por base as diretrizes citadas pela União Europeia e também pela *Food and Drug Administration* (FDA). Segue-se portanto o cumprimento do que é requerido pelas Boas Práticas de Fabrico (GMP) e pelas Normas ISO, nomeadamente ISO 9001, ISO 14001, OHSAS 18001 e EMAS^{1,2,3}.

O departamento de CQ é composto pelo Laboratório Físico-Químico e pelo Laboratório de Microbiologia. Nestes são feitas análises com recurso a métodos

farmacopeicos e protocolos internos, recorrendo a tecnologia de análise de ponta⁴, com o objetivo de garantir e monitorizar os padrões de qualidade dos produtos fabricados e comercializados pela Bluepharma.

2. Análise SWOT

Foi com o objetivo de analisar casos de estudo que, na década de 1950 surgiu em Harvard, desenvolvida pelos professores George Albert Smith Jr. e C Roland Christensen, a análise SWOT. Estes professores criaram uma ferramenta que, a nível organizacional, permitia uma análise face ao ambiente envolvente. A ideia original foi desenvolvida ao longo das décadas seguintes e discutida como sendo um marco no pensamento estratégico levando organizações a definir as suas forças, fraquezas, oportunidades e ameaças⁵.

2.1 Pontos fortes (*Strengths*)

2.1.1 Sessão de Acolhimento

No primeiro dia do estágio, à chegada e em conjunto com outros estagiários acolhidos pela Bluepharma, foi realizada uma receção que permitiu a sensação de integração neste novo ambiente, onde foi explicada a realidade desta IF: qual o objetivo desta indústria, como trabalham e como se projetam no futuro. Foram feitas apresentações pessoais à equipa da qual cada um faria parte, assim como às restantes equipas da indústria.

Esta iniciativa permitiu uma inclusão cómoda e simples, assegurando o conhecimento da nossa presença pelos colaboradores da Bluepharma. Esta prática de acolhimento é uma vantagem, na medida em que torna a nossa presença perceptível e nos integra com maior facilidade no ambiente da empresa.

2.1.2 Visita às instalações

Na primeira semana de estágio, ainda em período de integração, foi organizada uma visita com todos os estagiários pelas instalações da Bluepharma. Assim, foi dada a oportunidade de conhecer e perceber o circuito do medicamento dentro da indústria, desde a receção da matéria prima e excipientes até ao embalamento final do medicamento. Neste contexto foi possível visitar o Armazém, a Amostragem, a Fabricação e a Embalagem, os Laboratórios do Controlo de Qualidade, nos quais se

incluiu apenas o Laboratório Físico-Químico, e foi dado a conhecer o percurso de saída de emergência.

A meu ver, este é um ponto interessante na medida em que permite que cada pessoa, independentemente da sua posição e responsabilidade dentro da indústria, tenha conhecimento não só referente às infraestruturas que compõem a mesma, mas também relativo a todas as atividades aí desenvolvidas. Esta atividade permitiu ter uma visão holística daquela que é, provavelmente, a maior área de trabalho desta indústria, ou seja, a produção de medicamentos.

2.1.3 Formação interna contínua

Ao longo dos três meses de estágio, a formação foi uma atividade contínua de foco e nunca descurada. Recebi formação no âmbito de várias áreas, podendo referir “Ambiente, saúde e segurança no trabalho”, “Melhoria contínua”, “Sistemas de Informação”, “Sistema Documental Ennov – Perfil User Geral”, “Farmacovigilância: Sistema de Gestão Integrada” e “Boas Práticas de Pesagem”. No final das formações, cada formando realizava um pequeno teste de forma a garantir que os objetivos da formação tinham sido cumpridos, ou seja, que cada formando tinha adquirido o conhecimento que era pretendido.

Estas atividades permitem aos colaboradores a constante atualização dos seus conhecimentos, para da melhor forma desempenhar as suas tarefas e responsabilidades inerentes. A inclusão dos estagiários nestas formações surge como ponto positivo porque também nós estivemos em constante atualização para, tanto quanto possível, acompanhar os restantes colaboradores no cumprimento dos objetivos que eram propostos.

2.1.4 Plano de Estágio

Todo o meu estágio teve por base um plano que foi delineado, elaborado e justificado com um seguimento lógico em termos evolutivos de domínio de conhecimentos, responsabilidades e acompanhamento das atividades analíticas desenvolvidas no LM. Este ponto cumpre assim uma das competências da Orientadora externa que é, efetivamente, a definição de um plano de estágio.

Assim, no plano supracitado as minhas tarefas iniciaram-se com a leitura de capítulos da Farmacopeia Europeia (Ph.Eur.) e da Farmacopeia dos Estados Unidos (USP)

que servem de base à realização de ensaios microbiológicos; *Standard Operation Procedures* (SOPs) relativos a equipamentos regularmente utilizados na preparação de meios de cultura e manipulação de amostras: Balança Mettler Toledo-AG 204, Balança Mettler Toledo-PB 3002, Potenciómetro 713 pHmeter (elétrodo de vidro combinado Mettler Toledo InLab® pH science) (**Figura 1**), Autoclave Matachana (**Figura 2**) e um relativo à Preparação, controlo e armazenamento de meios de cultura. Esta leitura permitiu que eu me inteirasse da origem dos protocolos internos usados no LM, do modo de funcionamento dos equipamentos e do processo de preparação, controlo e armazenamento dos meios de cultura.

Posto isto, seguiu-se a observação e participação na verificação interna dos equipamentos e na preparação e armazenamento de meios de cultura.

Numa nova fase foi-me permitido acompanhar a análise microbiológica de amostras de libertação/estabilidade no seu todo: pesagem, repicagem, incubação, pesquisa de *Total Aerobic Microbial Count* (TAMC), *Total Yests/Moulds Count* (TYMC), microrganismos específicos e análise de resultados. Neste ponto, a análise microbiológica de amostras de libertação é realizada por forma a assegurar que, o lote do qual a amostra é representativa, tem asseguradas as condições ao nível microbiológico para prosseguir o processo que culmina na comercialização. Por outro lado, a análise microbiológica das amostras de estabilidade é realizada por forma a garantir que, o lote do qual a amostra é representativa, tem asseguradas as condições ao nível microbiológico para que a comercialização se mantenha.

Em acréscimo também me foi permitido o acompanhamento de processos de validação do método analítico, do controlo dos meios de cultura utilizados nas análises microbiológicas, da análise da água purificada, da verificação do processo de limpeza de equipamentos utilizados na fabricação e da monitorização microbiológica do ar das salas de fabricação.

À *posteriori* foi-me permitida a participação nas atividades descritas sob orientação de um analista.

2.1.5 Preparação e Controlo de Meios de Cultura

Ter-me sido apresentada a oportunidade de observar e preparar meios de cultura na forma de caldos, geloses e soluções, assim como de observar o controlo das suas propriedades nutritivas, seletivas e de esterilidade, foi sem dúvida um ponto

relevante. Isto na medida em que durante as aulas laboratoriais de Microbiologia Geral e de Bacteriologia e Análises Bacteriológicas do MICF, a utilização de meios de cultura foi feita com os mesmos previamente preparados. Deste modo consegui integrar no percurso do processo de análise microbiológica não só o conhecimento, mas também a experiência da preparação dos meios de cultura até estes estarem aptos a uso para análise e controlo.

Os meios de cultura são adquiridos para o LM sob a forma desidratada e a sua preparação passa pela adição de uma quantidade calculada de água purificada aos mesmos. Após isto, os mesmos têm que ver demonstradas as suas propriedades nutritivas, seletivas e de esterilidade.

A esterilização é feita com recurso a uma autoclave, a qual, através do calor húmido sob pressão, permite que sejam atingidos os níveis de esterilidade definidos nos protocolos internos⁶. O processo de esterilização é controlado com recurso a bioindicadores, neste caso preparações padrão de esporos bacterianos específicos para este processo de esterilização, que confirmam de forma direta, após incubação, se a esterilização atingiu o proposto⁷.

O controlo das propriedades nutritivas e seletivas é levado a cabo pela avaliação, no meio a testar, do crescimento de microrganismos suscetíveis de serem encontrados nas amostras a analisar. Dos mesmos microrganismos dos quais se pretende avaliar o crescimento referido é preparado um inóculo a partir de colónias isoladas que são adquiridas para o LM sob a forma de liofilizados, os quais têm de sofrer revivificação para serem utilizados neste processo. Aos meios de cultura a serem controlados é adicionado um determinado volume do inóculo. Em paralelo realiza-se uma avaliação com um controlo positivo no qual se determina o número de UFC que se espera obter nos meios de cultura a controlar. Para este controlo é usado um meio de cultura de um lote que já foi previamente controlado e aprovado^{8,9}.

2.1.6 Análise de Água Purificada

A observação e execução da análise da água purificada foram, sem dúvida, pontos fortes do estágio visto que acrescentaram valências à minha passagem pelo LM. Esta análise é da maior importância tendo em conta que a água purificada é um componente crucial da IF sendo usada amplamente como solvente, matéria prima e como agente de limpeza em processos operacionais de produtos farmacêuticos. Na Bluepharma, a água

utilizada é classificada como purificada. A sua obtenção é feita através de um processo de osmose reversa.

A validação e qualificação da água purificada assumem grande importância a nível de GMPs, assim como o seu armazenamento e o sistema de distribuição. Para a análise microbiológica da água purificada é executado o método de filtração por membrana usando o meio de cultura Agar R2A. Neste método, é filtrado um volume adequado e representativo de amostra e semeado em caixas de petri com o meio em causa; posteriormente são colocadas em incubação durante um tempo não inferior a 5 dias à temperatura de 30-35°C. Posto isto, no final da incubação, é feita a média aritmética da contagem de UFC/mL de colónias que possam estar presentes nas placas de Agar de R2A^{10,11,12}.

2.1.7 Verificação do processo de limpeza

Na IF, com ênfase na fabricação, a limpeza dos equipamentos é um processo de rotina e de notória importância. Isto porque uma limpeza adequada e eficaz permite que posteriores análises microbiológicas de compostos que por esses equipamentos tenham passado estejam dentro dos parâmetros considerados aceitáveis para a presença e/ou número de microrganismos. Deste modo, é requerida anualmente uma verificação dessa limpeza. Todos os equipamentos são verificados e, em cada um, tendo por critérios: dificuldade de limpeza do equipamento, solubilidade em água dos compostos que passaram pelo equipamento, dose terapêutica mínima do API (*Active Pharmaceutical Ingredient*), concentração de API e exposição mínima aceitável ao mesmo, é considerado o caso de maior risco para ser realizada a análise aos compostos que estiveram em contacto com esses equipamentos. Para além desta também é feita a análise da água de enxaguamento do equipamento assim como do resíduo do agente de limpeza. Apenas assim é possível garantir a eficácia do processo de limpeza^{13,14,15,16}.

Este ponto refere assim outra atividade que me foi possível acompanhar uma vez que estive presente no setor da fabricação para recolha das amostras para análise.

2.1.8 Análise Microbiológica do Ar

A possibilidade de estar presente durante a recolha de amostras do ar para avaliação microbiológica permitiu-me perceber o rigor e importância de analisar e

manter os espaços onde decorrem operações a nível industrial, controlados ao nível microbiológico.

Para o processo referido a determinação pode ser semi quantitativa através do Método de Sedimentação em Placas ou quantitativa pelo Método de Impacto.

O Método de Sedimentação em Placas consiste em deixar expostas ao ar, em cada sala prevista para análise, duas caixas de petri contendo meio de cultura. Neste, os microrganismos existentes no ar sedimentam na superfície do meio durante um intervalo de tempo especificado. Uma das placas contém agar de caseína e soja (CSA), que permite a determinação do TAMC, e a segunda contém Agar de Sabouraud-dextrose-cloranfenicol (SACA), que permite a determinação do TYMC. Posto isto as caixas devem seguir incubação. Para a determinação do TAMC o tempo de incubação é de 3-5 dias a uma temperatura de 30-35°C enquanto que para a determinação do TYMC o tempo é de 5-7 dias a uma temperatura de 20-25°C. Os resultados após incubação são apresentados em UFC/placa e unidade de tempo⁷.

O Método de Impacto determina a quantidade de microrganismos contidos num determinado volume de ar recolhido. Para o efeito é utilizado um instrumento de colheita denominado *Reuter-Centrifugal-Sampler* (RCS) que tem capacidade de semear por impacto os microrganismos numa tira de agar através de sucção e aceleração num fluxo centrífugo. As tiras de agar, tal como as caixas de petri, são duas. Uma contém CSA e a segunda SACA e após a colheita do volume especificado de ar, são incubadas em condições semelhantes às caixas de petri. No término da incubação as colónias visíveis são contabilizadas e a sua contagem é expressa em UFC/m³ tendo em conta o volume de ar colhido¹⁷.

2.1.9 Acompanhamento de atividades de outros setores

Ao longo do estágio foi-me dada a oportunidade de acompanhar atividades de outros setores da IF englobando áreas que se encontram dentro do CQ.

Amostragem: neste setor acompanhei um processo de colheita de uma matéria prima. Com isto, tornou-se claro para mim um dos primeiros passos do processo do circuito do medicamento dentro da indústria; sendo que, um processo correto de amostragem é essencial para garantir a representatividade do lote da amostra recebida.

Laboratório Físico-Químico: na passagem pelo laboratório FQ acompanhei, recebendo igualmente formação, um processo de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC). Neste, observei todo o procedimento iniciado pela preparação de amostra, padrões, branco, fase móvel, preparação do equipamento, corrida, integração e interpretação de cromatogramas.

2.2 Pontos Fracos (*Weaknesses*)

2.2.1 Reconhecimento do Estágio em Indústria Farmacêutica

Dado o enriquecimento ao nível profissional que o estágio na indústria me trouxe, considero uma fraqueza a informação que consta na Diretiva 2013/55/UE, do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de novembro de 2013, no seu Artigo 45.º n.º 2 segundo o qual se prevê “No decurso ou no fim do formação teórica e prática, seis meses de estágio em farmácia aberta ao público ou num hospital, sob a orientação do serviço farmacêutico desse hospital”. No entanto, a mesma diretiva indica que os detentores de um título de formação em farmácia estejam habilitados, pelo menos: a) Preparação da forma farmacêutica dos medicamentos; b) Fabrico e controlo de medicamentos; c) Controlo de medicamentos num laboratório de ensaio de medicamentos¹⁸.

Posto isto, uma vez que a Diretiva indica algumas das responsabilidades desempenhadas ao nível da IF como sendo habilitações de um farmacêutico, deveria o estágio nessa área ser reconhecido assim como os restantes indicados.

2.2.2 Controlo de Qualidade de Formas Farmacêuticas Oraís Não Estéreis

Na Bluepharma são produzidos, a nível industrial, comprimidos e cápsulas. Assim, é de notar o fabrico apenas de formas farmacêuticas orais não estéreis. Este ponto fez com que não tivesse a possibilidade de observar o controlo de qualidade, mais especificamente, a análise microbiológica de produtos estéreis onde, inevitavelmente, se opera com diferentes procedimentos que representam sempre um ponto de aprendizagem. Este, caso concretizado, apresentar-se-ia sempre como uma vantagem para mim, em termos de estagiária, uma vez que iria acrescentar experiências ao meu estágio.

2.2.3 Métodos Convencionais na Análise Microbiológica

No LM são efetuadas análises microbiológicas recorrendo a métodos fenotípicos convencionais nos quais são pesquisados parâmetros de carácter quantitativo e qualitativo. Por consequência, não sendo o LM suportado por métodos mais recentes que recorrem a tecnologias moleculares para pesquisa e identificação de microrganismos não me foi possível o contacto, a nível laboratorial, com os referidos métodos.

Os métodos utilizados no LM são baseados em procedimentos compendiais e englobam análise quantitativa e qualitativa. Os primeiros estão relacionados com a pesquisa de TAMC e TYMC que correspondem a ensaios de enumeração microbiológica através de filtração por membrana ou sementeira em placa. Os qualitativos correspondem à pesquisa de microrganismos específicos tendo em conta as especificações que se encontram descritas em ambas as farmacopeias Ph. Eur. e USP^{8,9}.

2.2.4 Registos

Num ambiente de certificação e garantia da qualidade, típico da IF, é fundamental a existência de registos de todos os procedimentos efetuados. No entanto, sendo estes em papel e havendo repetição significativa da informação, decorre inevitavelmente deste ato uma perda considerável de tempo útil de análise, levando por consequência ao atraso dos processos analíticos e do lançamento dos seus resultados.

2.3 Oportunidades (*Opportunities*)

2.3.1 Auditorias

As auditorias, quer internas quer externas, surgem de forma regular como momentos nos quais se leva a cabo uma avaliação à conformidade do funcionamento, infraestruturas e procedimentos realizados no LM. Deste modo, são oportunas as auditorias, na medida em que permitem detetar desvios de conformidade que podem posteriormente sofrer uma ação corretiva. Esta ação fomenta assim a melhoria contínua.

2.3.2 Estágios Curriculares

A possibilidade de receber estagiários na Bluepharma e de aos mesmos fornecer material e responsabilidades para que possam fazer parte integrante da unidade de

trabalho da empresa, surge como uma oportunidade tanto para a indústria como para o estagiário, na medida em que permite que futuros mestres na área reconheçam o potencial e os valores da indústria, que os transmitam e se interessem por ela como perspectiva de trabalho.

2.4 Ameaças (*Threats*)

2.4.1 Áreas de Formação na Indústria Farmacêutica

Através da oportunidade de visita às instalações e passagem, ainda que breve, por diferentes departamentos da IF foi possível entender a variedade de áreas de formação que existem dentro da mesma. Este facto traduz-se, em certo modo, numa perda de abrangência da posição de quem possui formação em Ciências Farmacêuticas na área da IF. Isto manifesta-se pela necessidade de quem se encontra nesta situação ter que ver demonstradas capacidades, responsabilidades e aptidões redobradas para o desempenho de determinadas responsabilidades.

3. Caso Prático

3.1 Validação de Método de Análise Microbiológica

3.1.1 Validação de Método de Análise Microbiológica nos Comprimidos de Libertação Modificada B 400µg

Este processo serve o objetivo de avaliar a capacidade do método analítico usado para detetar microrganismos na presença de B 400µg comprimidos de libertação modificada.

Os testes foram efetuados segundo a Ph. Eur. 8.0/9.0 e a USP 39/NF 34. Os meios de cultura e as estirpes teste dos microrganismos padrão foram preparados e controlados segundo a Ph. Eur. 2.6.12.-4.¹⁹ e a USP <61>⁸ - “*Growth Promotion Test, Suitability of the Counting Method and Negative Controls*”.

Foram inicialmente preparadas suspensões padrão dos microrganismos por forma a que fosse possível obter inóculos apropriados com um número de UFC entre 10-100. Em paralelo, foram realizados controlos positivos e negativos por forma a avaliar a adequabilidade do teste e para verificar as suas condições.

Os critérios de aceitação foram estabelecidos de acordo com a Ph. Eur. 5.1.4.-1.²⁰ and USP <1111>²¹ - “*Acceptance criteria for microbiological quality of non-sterile dosage*

forms – non-aqueous preparations for oral use”. Os testes realizados encontram-se de acordo com o descrito na Ph. Eur. 2.6.12.¹⁹ / 2.6.13.⁹ e USP <61>⁸ / <62>²². Os critérios mencionados, assim como os métodos, encontram-se de acordo com Ph. Eur. 8.0 / 9.0 e USP 39 /NF 34, edições atuais que decorreram segundo a harmonização farmacopeica.

3.1.1.1 Adequabilidade do Método de Contagem na Presença de Produto para o Teste de Enumeração Microbiológica: Preparação da Amostra, Condições de Incubação e Resultados

Tendo em conta as características físicas do produto, a amostra foi preparada de acordo com os procedimentos recomendados na “Ph. Eur. 2.6.12. – 4-5-1.¹⁹ e USP <61>⁸ - *Preparation of the sample*”.

A amostra de libertação prolongada foi pulverizada. No entanto, esta abordagem não foi adequada na medida em que, após a adição da amostra à solução tampão (solução tamponada de cloreto de sódio e peptona a pH 7.0), formou-se um aglomerado impossível de manipular. Deste modo, a preparação da amostra passou pela pesagem direta na solução, sem pulverização prévia. (**Figura 3**)

As preparações das estirpes teste, o controlo negativo e a promoção do crescimento dos meios foram efetuados por forma a obter uma taxa de recuperação aceitável do produto. Os testes foram realizados num lote, testando três diluições (1:10, 1:100 e 1:1000) para avaliar a adequabilidade através do cálculo da taxa de recuperação de microrganismos. Após obter a avaliação da taxa de recuperação desse lote, foram testados mais dois lotes com a mesma formulação, tendo por objetivo demonstrar a reprodutibilidade do método ao longo das diluições e entre lotes do mesmo produto.

O método utilizado foi a contagem em placa, em profundidade. A preparação da amostra foi iniciada com a pesagem de 10.00g da mesma para 100mL de solução tampão de cloreto de sódio e peptona a pH 7.0. Seguiu-se a diluição de 1:100 e 1:1000. Seguindo o método de sementeira em profundidade, em duplicados de caixas de petri para cada diluição, foi colocado em cada uma 1mL da solução tampão de cloreto de sódio e peptona a pH 7.0 com amostra. Isto, efetuado para cada microrganismo de um conjunto de cinco, sendo eles *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* e *Aspergillus brasiliensis*. Este processo foi feito para CSA e repetido para Agar de Sabouraud (SDA); sendo neste último apenas aplicado a *Candida albicans* e *Aspergillus brasiliensis*. O controlo positivo era constituído por solução tampão de cloreto

de sódio e peptona a pH 7.0 e suspensão do microrganismo enquanto que o controlo negativo continha a mesma solução tampão e o meio utilizado para sementeira (CSA ou SDA). **(Figura 4)**

A incubação para TAMC decorreu durante 3 dias a uma temperatura entre 30-35°C e para TYMC decorreu igualmente durante 3 dias a uma temperatura entre 20-25°C. O processo foi repetido para os restantes dois lotes usando apenas a diluição de 1:10.

Após incubação fez-se a contagem em todas as placas e calculou-se a média aritmética para cálculo da taxa de recuperação. Neste, o número de UFC presentes nas caixas de controlo positivo correspondem a 100% de recuperação e o número de UFC presentes nas restantes caixas permitem calcular a taxa de recuperação. Os resultados em toda a análise realizada encontravam-se dentro dos parâmetros (50%-200%). **(Figura 5)**

3.1.1.2 Adequabilidade do método, na presença de produto, para microrganismos específicos – Teste Microbiológico para a deteção da *E.coli*: Preparação da amostra, condições de incubação e resultados

O teste de adequabilidade foi realizado de acordo com a Ph. Eur. 2.6.13.⁹ – 3-4. e 2.6.13.⁹ – 4-2., assim como a USP <62>²² - “*Suitability of the Test Method*”. Os testes foram primeiramente efetuados apenas num lote de produto por forma a avaliar e estabelecer a adequabilidade do método para detetar *E.coli*.

A avaliação da capacidade de deteção foi baseada nas reações típicas indicadoras da presença de *E.coli* como é estabelecido na Ph. Eur. 2.6.13.-3-4.⁹ e USP <62>²² - “*Suitability of the Test Method*”.

A amostra foi preparada segundo os procedimentos gerais recomendados na “Ph. Eur. 2.6.12. – 4-5-1.¹⁹ e USP <61>⁸ -*Preparation of the sample*” tendo em atenção as características físicas do produto.

A preparação da amostra iniciou-se assim com a pesagem direta da mesma no meio de crescimento/enriquecimento recomendado, Caldo de Caseína e Soja (CSB).

Em paralelo com a mistura da amostra preparada, a estirpe teste foi adicionada ao meio de crescimento previsto.

A preparação da amostra, para o primeiro lote, iniciou-se com a pesagem de 1.08g (10,8mL) em 100mL de CSB seguindo-se incubação por 18 horas a uma temperatura entre 30-35°C. Após isto, passaram-se 1mL para 100mL de Caldo de

MacConkey (MCB) e incubou-se por 24 horas a uma temperatura entre 42-44°C. A subcultura foi por fim realizada no Agar de MacConkey (MCA) com um período de incubação de 18 horas a 30-35°C. O mesmo procedimento foi efetuado para os restantes dois lotes testados e para os respetivos controlos positivo (**Figura 6**) e negativo (branco). Nestes o resultado foi positivo para a amostra e controlo positivo e negativo para o controlo negativo. Realizou-se a contagem de UCF presentes no inóculo da suspensão do microrganismo usada, tanto no primeiro como nos restantes lotes. A média aritmética permitiu resultados entre as 25 e 37 UFC. (**Figura 7**)

4. Conclusão

Findo o estágio, e em retrospectão, posso mencionar as significativas vantagens que o mesmo me trouxe. Nestas devo incluir a visão da importância no mercado da posição do farmacêutico ao nível da indústria, a evolução na minha capacidade de trabalho em ambiente laboratorial e a melhoria na capacidade de trabalhar de forma protocolada, rigorosa e responsável.

Deste modo consegui entender, vivendo a experiência, o nítido valor da posição de um farmacêutico na indústria no que se refere ao controlo de qualidade e, dentro desta, à microbiologia, para além de ter observado a sua capacidade de integração nas mais diversas áreas que o MICEF proporciona. Isto devido à oportunidade de observar a maioria do trabalho que é realizado por farmacêuticos na Bluepharma.

Posso então concluir que este percurso, embora curto, foi caracterizado por uma nítida evolução em termos de capacidades de trabalho a nível laboratorial e em equipa, organização, sentido de responsabilidade e confiança no trabalho feito. É possível ainda acrescentar a oportunidade que este estágio me deu por forma a pôr em prática, permitindo o aperfeiçoamento, dos conhecimentos que foram adquiridos nos cinco anos de aulas laboratoriais do MICEF.

5. Referências Bibliográficas

1. Blueharma **Quem somos.** (2018) [Consultado a: 23 de março de 2018 às 19:04h] Disponível na Internet: <https://www.bluepharma.pt/about-us.php>.
2. Bluepharma **Quem somos.** (2018) [Consultado a: 23 de março de 2018 às 19:07h] Disponível na Internet: <https://www.bluepharma.pt/about-quality.php>.
3. Bluepharma **Fabrico.** (2018) [Consultado a: 23 de março de 2018 às 19:15h] Disponível na Internet: <https://www.bluepharma.pt/manufacturing/production.php>.
4. Bluepharma **Controlo de Qualidade.** (2018) [Consultado a: 23 de março de 2018 às 19:21h] Disponível na Internet: <https://www.bluepharma.pt/manufacturing/qualitycontrol.php>.
5. GHAZINOORY, S., ABDI, M. and AZADEGAN-MEHR, M. - **SWOT Methodology: A State-of-the-Art Review for the Past, A Framework for the Future.** *J. Bus. Econ. Manag.* ISSN 1611-1699. **12:1** (2011). 24–48 doi:10.3846/16111699.2011.555358
6. JIMENEZ, L. - **Environmental Monitory.** in JIMENEZ, L. *Microbial Contamination Control in the Pharmaceutical Industry 1sted.* Massachusetts: Genomic Profiling Systems, Inc, 2004. ISBN 0-8247-5753-X. cap.5, p.103–132.
7. JIMENEZ, L. - **Sterility Tests and Procedures.** in JIMENEZ, L. *Microbial Contamination Control in the Pharmaceutical Industry 1sted.* Massachusetts: Genomic Profiling Systems, Inc, 2004. ISBN 0-8247-5753-X. cap.4, p.77–102
8. USP - **Chapter <61> Microbiological Examination of Nonsterile Products: Microbial Enumeration Tests.** United States Pharmacopoeia 39 - National Formulary 34. Rockville: The United States Convention, 2016. ISBN: 978-3769265606.
9. COUNCIL OF EUROPE - **2.6.13. Microbiological Examination of Non-sterile Products: Test for Specified Micro-organisms.** European Pharmacopoeia 9.0. Strasbourg: EDQM, 2017. ISBN: 978-9287181336.
10. USP - **Chapter <1231> Water for Pharmaceutical Purposes.** United States Pharmacopoeia 39 - National Formulary 34. Rockville: The United States Convention, 2016. ISBN: 978-3769265606.
11. COUNCIL OF EUROPE - **Water Purified Monograph.** European

- Pharmacopoeia 9.0. Strasbourg: EDQM, 2017. ISBN: 978-9287181336.
12. COMMITTEE FOR PROPRIETARY MEDICAL PRODUCTS (CPMP)- **Guidance on Quality of Water for Pharmaceutical Use**. London: European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2002.
 13. **Cleaning Procedures as the FDA see it**. *Int. J. of Generic Drugs*. ISSN 0793 7784. (1963) p.97–104 doi:10.1007/b102110
 14. NASSANI, M. - **Cleaning Validation in the Pharmaceutical Industry**. *J. Valid. Technol.* (2005) 38–58
 15. WALSH, A. - **Cleaning Validation for the 21st Century: Overview of the New ISPE Cleaning Guide**. *The official Magazine of ISPE*. **31, 6** (Novembro/Dezembro 2011) 44–49
 16. HEALTH SCIENCES AUTHORITY. - **Cleaning validation GUIDE-MQA-008-008**. Singapura: Health Sciences Authority, 2013.
 17. USP, Chapter <1116> **Microbiological Control and Monitoring of Aseptic Processing Environments**. United States Pharmacopoeia 39 - National Formulary 34. Rockville: The United States Convention, 2016. ISBN: 978-3769265606.
 18. DIRETIVA 2013/55/EU do Parlamento Europeu e do Conselho. de 20 de novembro de 2013 - Altera a Diretiva 2005/36/CE relativa ao reconhecimento das qualificações profissionais e o Regulamento (EU) n.º 1024/2012 relativo à cooperação administrativa através do Sistema de Informação do Mercado Interno. **Jornal Oficial da União Europeia**, L354/157. de 28 de dezembro de 2013.
 19. COUNCIL OF EUROPE - **2.6.12. Microbiological Examination of Non-sterile Products: Microbial Enumeration Tests**. European Pharmacopoeia 9.0. Strasbourg: EDQM, 2017. ISBN: 978-9287181336.
 20. COUNCIL OF EUROPE - **5.1.4 Microbiological quality of nonsterile pharmaceutical preparations and substances for pharmaceutical use**. European Pharmacopoeia 9.0. Strasbourg: EDQM, 2017. ISBN: 978-9287181336.
 21. USP - **Chapter <1111> Microbiological Examination of Nonsterile Products: Acceptance Criteria for Pharmaceutical Preparations and Substances for Pharmaceutical Use**. United States Pharmacopoeia 39 - National Formulary 34. Rockville: The United States Convention, 2016. ISBN: 978-3769265606

22. **USP - Chapter <62> Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for Specified Microorganisms.** United States Pharmacopoeia 39 - National Formulary 34. Rockville: The United States Convention, 2016. ISBN: 978-3769265606.

6. Anexos

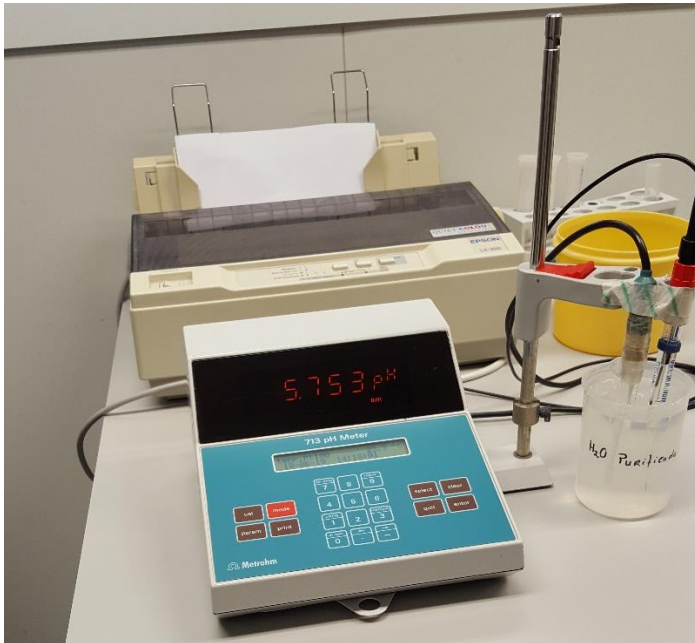


Figura 1 Potenciômetro 713 pHmeter (elétrodo de vidro combinado *Mettler Toledo InLab® pH science*) (Fonte: Ana Paula Reis, LM)



Figura 2 Autoclave Matachana (Fonte: Ana Paula Reis, LM)



Figura 3 Pesagem de amostra na balança Mettler Toledo-PB3002 (Fonte: Ana Paula Reis, LM)

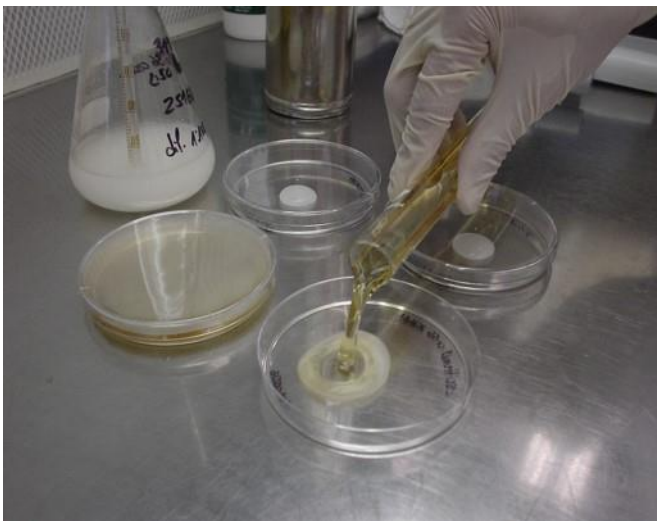


Figura 4 Método de sementeira em profundidade (Fonte: Ana Paula Reis, LM)

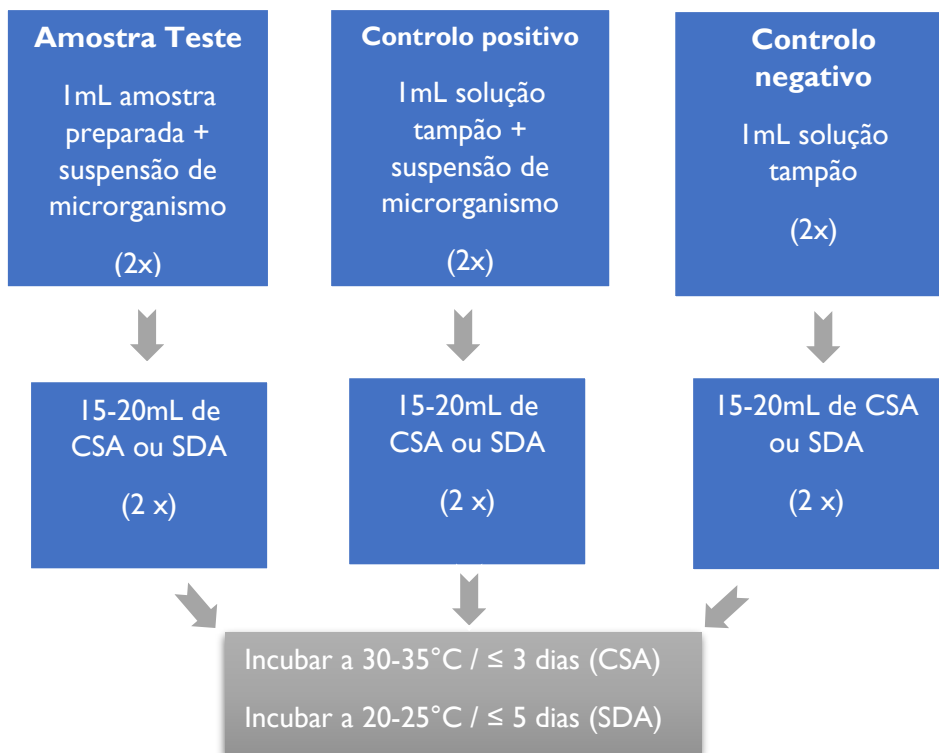


Figura 5 Esquematização do Teste de enumeração microbiológica (Fonte: a autora)



Figura 6 *E.Coli* em MCA (Fonte: Ana Paula Reis, LM)

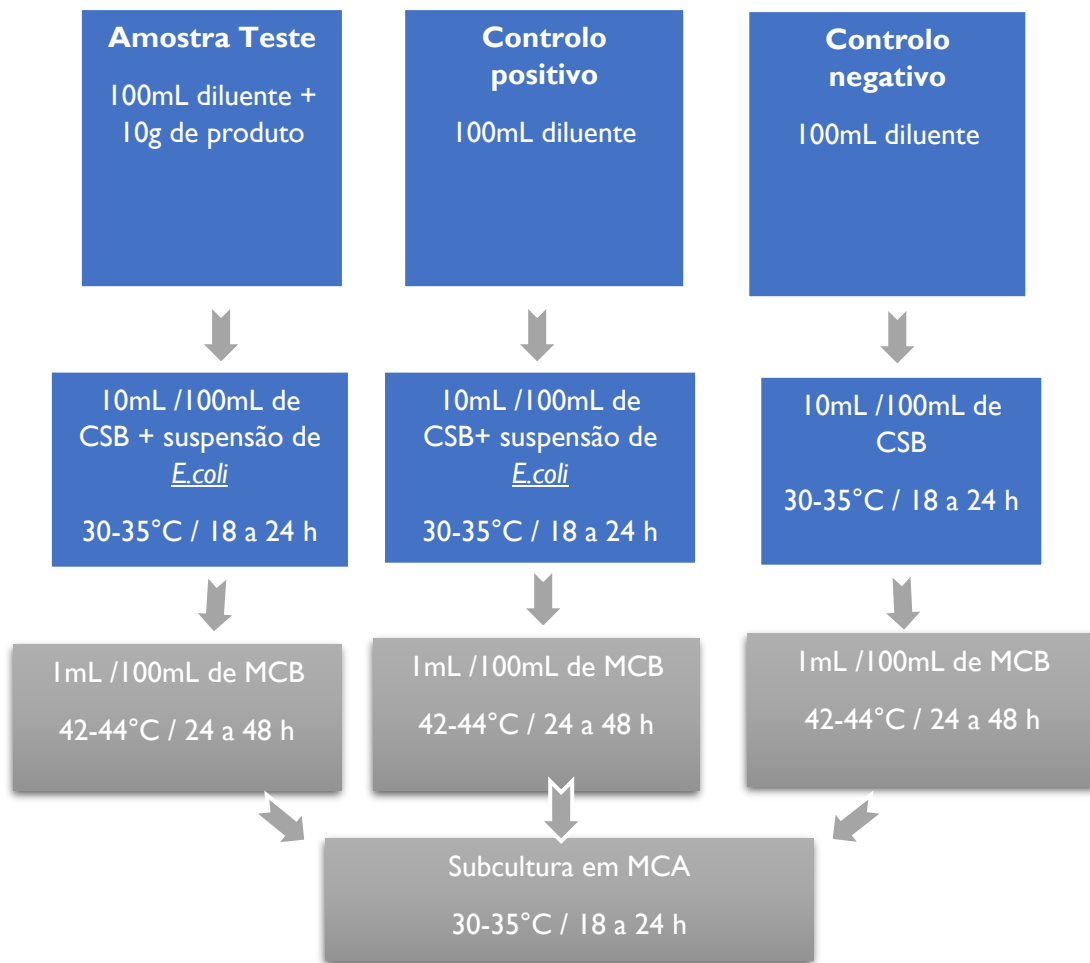


Figura 7 Esquematização do Teste microbiológico para deteção de *E.coli* (Fonte: a autora)

Parte III: Monografia

Integrinas e Moléculas de Adesão como Alvos Terapêuticos na Esclerose Múltipla



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Agradecimentos

Aos meus pais um simples agradecimento não chega para medir a gratidão pelo apoio incondicional em todas as minhas decisões. Que um dia possa retribuir, no mínimo, uma parte de tudo o que me deram. Mais ainda ao meu pai pelo suporte emocional em todas as horas, sem exceção. Ao seu carinho e amor incondicional dedico todo o meu trabalho.

Deixo o meu especial agradecimento à minha orientadora, Pr.^a Dr.^a Alexandrina Ferreira Mendes pela disponibilidade que demonstrou, por toda a sua ajuda e pela sua exigência para que o resultado do meu trabalho fosse o melhor possível.

À minha irmã mais velha que em todos os meus passos me avisa das intempéries que virão e como ultrapassá-las.

Às minhas amigas de Jardinagem que partilharam comigo estes últimos tempos de maior preocupação. A elas que sempre tiveram uma palavra de força acompanhada de humor.

Agradeço também à Sara e à Sofia que, tendo já vivido a experiência, me precaveram para da melhor forma enfrentar os obstáculos. Ao seu carinho imenso. O meu mais sincero agradecimento é também a quem foi a melhor companhia para esta fase. Não me deixando esquecer o objetivo de todo este trabalho.

Resumo

Afetando milhões de pessoas em todo o mundo, a Esclerose Múltipla (EM) apresenta-se como uma doença autoimune, crónica e degenerativa que afeta o Sistema Nervoso Central (SNC) provocando a perda de mielina nos axónios e afetando a matéria branca.

A inflamação, característica da EM, é a causa do dano que é provocado na mielina e, por consequência, nos axónios. Os leucócitos circulantes no sangue são recrutados para o local da inflamação e, de entre estes, os linfócitos T são umas das células que têm a capacidade de atravessar a Barreira Hematoencefálica (BHE) sendo que, após isto, sofrem reativação desencadeando uma cascata inflamatória da qual resulta libertação de citocinas, quimiocinas e outras moléculas. A passagem para o SNC é possível devido às integrinas $\alpha 4$, proteínas transmembranares com diferentes subunidades como a $\beta 1$ e a $\beta 7$. A integrina $\alpha 4\beta 1$ à superfície dos linfócitos T liga-se à molécula-1 de adesão celular vascular (VCAM-1) na superfície das células do endotélio capilar, permitindo a supracitada passagem. Este passo da inflamação é crucial para alcançar a mielina dos axónios.

Deste modo existe o interesse em atuar sobre estas proteínas transmembranares, bloqueando a sua ação, por forma a impedir que ocorra a passagem da BHE. Para este objetivo foram pesquisados possíveis fármacos e, surgiram neste seguimento, anticorpos, pequenas moléculas e peptídeos.

O anticorpo monoclonal Natalizumab surgiu na passada década como opção terapêutica após resultados de eficácia e segurança nos ensaios clínicos. No entanto, casos de Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva (LMP) foram associados ao mesmo.

O Finategrast, pequena molécula antagonista das integrinas, surgiu após o Natalizumab como alternativa ao mesmo com um menor tempo de semivida e administração *per os* em opção à via intravenosa. Existem outros exemplos de antagonistas das integrinas que foram sujeitos a ensaios clínicos: CT301, CDP323 e HCA3551 tendo algumas destas moléculas demonstrado potencial para realização de ensaios clínicos e desenvolvimento.

Posto isto, é possível perceber que algumas soluções foram e ainda estão a ser propostas no que toca às integrinas como alvos terapêuticos e será sobre essas mesmas soluções que a seguinte revisão bibliográfica incidirá.

Palavras-chave: esclerose múltipla, integrinas, Natalizumab, antagonistas das integrinas, Finategrast.

Abstract

Affecting millions of people worldwide, Multiple Sclerosis (MS) presents itself as an autoimmune, chronic and degenerative disease that affects the Central Nervous System leading to axon myelin loss and affecting the white matter.

Inflammation it is a feature of this illness and it is the cause of the damage that the myelin suffers and by consequence, the axons. The circulating leukocytes in the bloodstream are recruited to the local of inflammation and among these the T cells are one of the cells that can cross the blood-brain barrier. After this the T cells are reactivated and trigger an inflammatory cascade from which results the release of cytokines, chemokines and other molecules. This crossing it is possible due to the $\alpha 4$ integrins, transmembrane proteins with different subunits like $\beta 1$ and $\beta 7$. The $\alpha 4\beta 1$ integrin located at the surface of T cells bind VCAM-1 at the surface of the vascular endothelial cells and allow the mentioned crossing. This step of the inflammation it is crucial to reach the axon myelin. Given this, there is all the interest about acting on these transmembrane proteins, blocking its action in a way that can stop the passage through the central nervous system by the T cells. To compete for this purpose some possible drugs were studied and as a result of this, antibodies, small molecules and peptides emerged.

The monoclonal antibody Natalizumab aroused on the previous decade as a therapeutic option after showing results of efficacy and safety at the clinical trials. Unfortunately, some reports of Multifocal Progressive Leukoencephalopathy were associated with it.

Firategrast, a small integrin antagonist molecule, emerged after Natalizumab as an alternative to it with a smaller half-life and oral administration.

Other examples of integrin antagonists are: CT301, CDP323 and HCA3551. Some of these have demonstrated potential to realize clinical trials and development.

Given the written above it is possible to notice that some solutions were and still are being proposed as drugs to act on the integrins and it will be about those solutions that the following revision will be about.

Key words: multiple sclerosis, integrins, Natalizumab, integrins antagonists, Firategrast.

Abreviaturas

BHE	Barreira Hematoencefálica
CMH II	Complexo Major de Histocompatibilidade II
DDI-VEMT	Doença Desmielinizante Induzida pelo Vírus da Encefalomielite Murina de Theiler
EAE	Encefalomielite Autoimune Experimental
EBV	Vírus de Epstein-Barr
EM	Esclerose Múltipla
EMPP	Esclerose Múltipla Progressiva Primária
EMPR	Esclerose Múltipla Progressiva/Remitente
EMPS	Esclerose Múltipla Progressiva Secundária
EMSR	Esclerose Múltipla Surto Remissão
EPE	Estudo de Potenciais Evocados
IFN-β	Interferão Beta
JC	vírus John Cunningham
LMP	Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva
MaDCAM-I	Molécula-I de adesão celular adressina das mucosas
MSIF	Federação Internacional da Esclerose Múltipla
PL	Punção Lombar
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SCI	Síndrome Clínico Isolado
SNC	Sistema Nervoso Central
VCAM-I	Molécula-I de adesão celular vascular
VLA-4	Antogénio-4 muito tardio

I. Introdução

I.1 Fisiopatologia da Esclerose Múltipla

Tendo como marca patológica a desmielinização, a esclerose múltipla (EM) é uma doença autoimune que envolve o sistema nervoso central (SNC) e que é caracterizada como neurodegenerativa, inflamatória e crónica. Esta classificação deve-se ao facto de os axónios perderem capacidade de propagação adequada do impulso nervoso, dada a destruição da mielina, em consequência da resposta inflamatória da qual é alvo no decurso da doença^{1,2}.

A sequência: inflamação, desmielinização e formação de cicatrizes, é um processo comum da EM que é possível ser observado ao nível do córtex cerebral¹. A região mais afetada é a matéria branca da espinal medula, cérebro e nervos óticos³.

As lesões, quando de grande carácter inflamatório, podem provocar destruição parcial ou total do axónio¹. Deste modo, a EM encontra na patologia neuronal uma desencadeante para a incapacidade neurológica, dados os danos provocados na mielina dos axónios que são cobertos por estas bainhas. Ou seja, estes axónios, diferentemente dos que não têm uma bainha de mielina, sofrem ataques do sistema imunitário⁴. Este fenómeno afeta inevitavelmente a transmissão do impulso nervoso, levando à manifestação dos sintomas da EM. Isto porque ocorre um bloqueio temporário da condução do impulso após um episódio de inflamação do qual decorre a perda da mielina¹.

Os oligodendrócitos são as células cuja função engloba não só a síntese, mas também a manutenção da membrana lipídica que reveste os axónios do SNC, a mielina¹. Quando se inicia o processo de lesão dos tecidos é possível detetar a degeneração da mesma de forma bastante imediata⁵. Contiguamente nota-se que, apesar de perderem a capacidade de diferenciação em células maduras produtoras de mielina, há um número maior de células precursoras de oligodendrócitos nos locais de lesão comparativamente aos tecidos não afetados¹. Quando se inicia uma crise aguda de inflamação ocorre a formação de “placas fantasmas”, zonas de desmielinização dos axónios³, sendo da responsabilidade dos oligodendrócitos permitirem uma remielinização parcial dos axónios afetados³. Pode, no entanto, ocorrer confluência das mesmas dando origem a placas de grandes dimensões¹.

Evolutivamente, a EM pode manifestar-se de forma progressiva ou em episódios de recidivas seguidas de remissões, possuindo assim uma evolução variável. As lesões resultantes da patologia têm uma evolução disseminada a nível de localização no SNC e igualmente ao longo do tempo¹.

O primeiro sinal que indica, em termos de evidências neurológicas, EM, acontece de forma isolada no tempo e é reconhecido como Síndrome Clínico Isolado (SCI)⁶. Neste é possível observar mielite parcial, neurite ótica ou síndromes do tronco cerebral. Por forma a avaliar se há progressão do SCI para EM efetua-se uma Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e uma avaliação da presença de bandas oligoclonais numa eletroforese do líquido cefalorraquidiano, resultantes da acumulação e secreção de anticorpos⁷, produzidos pelos linfócitos B do parênquima⁸. As bandas acrescentam informação ao primeiro teste, uma vez que são a marca da existência, ao nível do SNC, de um fenómeno inflamatório e representam o melhor marcador biológico do risco de progressão para EM^{8,9}.

Patogénese

Foi no seguimento de estudos sobre a Encefalomielite Autoimune Experimental (EAE), “...um modelo animal de desmielinização inflamatória do SNC que pode ser induzido por imunização periférica com componentes proteicos da mielina.”³, que se desenvolveu o conhecimento do processo envolvido na imunopatogénese da EM. Este conhecimento foi alcançado graças ao facto de, apesar de se referir um modelo animal, ter sido possível desenvolver semelhanças com a patologia que se pretendia estudar. Nestas semelhanças se podem incluir, devido à ação de células T reativas contra a mielina, a desmielinização, assim como perda de axónios e de oligodendrócitos³.

As manifestações da EM são evidentes quando, num indivíduo suscetível a nível genético aos fatores de risco, devido às suas características capazes de despoletar respostas imunológicas, ocorre uma perda da capacidade de tolerância do próprio organismo não só aos antigénios do SNC, mas também à mielina. A consequência é refletida nas células T auto reativas que são ativadas de forma significativa a nível periférico. Nos infiltrados inflamatórios, muito comuns na EM é possível encontrar, para além de células T ativadas, células B, macrófagos e plasmócitos. As células T CD4+ encontram-se maioritariamente no espaço perivascular e nas meninges. Estas células necessitam de ativação mediante interação com o Complexo Major de

Histocompatibilidade II (CMH) e, posto isto, libertam mediadores inflamatórios e citocinas que permitem uma adicional libertação de citocinas pró-inflamatórias para além de atrair macrófagos. Por sua vez, é no parênquima das lesões da EM que se encontram as células T CD8+ capazes de causar dano nos neurónios e oligodendrócitos de forma direta. Verifica-se a presença de interferão gama no CNS, libertado pelas células T *helper* (Th) I e interleucina-17 libertada pelas células Th 17. Também referidos como presentes nos infiltrados inflamatórios, os plasmócitos libertam imunoglobulinas. Estas irão ligar-se a autoantígenos e desta ligação pode estar dependente citotoxicidade celular e ativação do complemento¹⁰.

Na patogénese da EM há, portanto, envolvimento do sistema imunitário e uma reatividade cruzada na qual há reconhecimento de proteínas endógenas (proteína básica da mielina) como sendo uma proteína patogénica exógena (antígenos bacterianos ou virais), processo este designado por mimetismo molecular. Esta reatividade culmina na ativação dos linfócitos T, devido ao dano celular^{3,11}. Os linfócitos T, em conjunto com macrófagos, libertam substâncias tais como citocinas, proteases, radicais livres de oxigénio, óxido nítrico e moléculas tóxicas contra a bainha de mielina através da sua infiltração na substância branca circundante³. Nas células do endotélio capilar está presente a Molécula-1 de adesão celular vascular (VCAM-1), cuja expressão é induzida em parte pelo fator de necrose tumoral α (TNF- α)¹¹, que interage com o antígeno-4 muito tardio (VLA-4) que se encontra nos linfócitos T e é constituído pela integrina $\alpha 4\beta 1$. É esta interação entre moléculas de superfície nos dois tipos de células que permite a migração dos linfócitos T através da Barreira Hematoencefálica (BHE)^{3,12}. Após a adesão, a migração é possível uma vez que os linfócitos se ligam a lamininas, glicoproteínas da membrana basal, para atravessarem as duas barreiras dessa mesma membrana¹¹. A sobreexpressão de moléculas de adesão, metaloproteinases da matriz e quimiocinas são processos facilitadores desta migração para o SNC³.

As células T auto reativas ativadas periféricamente podem, após entrada no SNC, voltar a ser ativadas. As células dendríticas, células B e macrófagos exercem a sua ação como apresentadores de antígenos e permitem a reativação das células T auto reativas ao apresentarem os autoantígenos do parênquima cerebral através do Complexo Major de Histocompatibilidade II, às células T. Este fenómeno tem como resultado a desmielinização, dado o início da cascata de inflamação na qual se libertam quimiocinas

e citocinas e na qual ocorre recrutamento de células inflamatórias ao mesmo tempo que ocorre uma contínua ativação da microglia^{3,10}. (**Figura 6**)

Sintomas

Os sintomas da EM são diversos e ocorrem com diferentes frequências. Como sintomas mais frequentes é de notar a perda sensitiva (37%), neurite ótica (36%), fraqueza muscular (35%) e parestesias (24%). Como sintomas menos frequentes, mas que ainda assim se manifestam, enumeram-se a paralisia facial (1%), epilepsia (1%), demência (2%), dor (3%) e Lhermitte (dor neuropática intensa)¹³ (3%)¹.

Existe uma diferença no que respeita à velocidade de transmissão do impulso nervoso entre axónios com mielina e axónios sem mielina. Nos primeiros, numa situação normal, o impulso é propagado apenas nos nódulos de Ranvier, local em que ocorre despolarização dos canais de sódio de alta voltagem seguida de repolarização dependente de canais de potássio. Deste modo, a velocidade de propagação do impulso nervoso nestes é 5 a 7 vezes superior comparativamente a axónios que sofreram desmielinização decorrente da EM. Neste caso específico ocorrem descargas elétricas de forma espontânea que em primeiro lugar levam a uma propagação mais lenta do impulso nervoso e em acréscimo, levam à manifestação de sintomas como o Sinal de Lhermitte que decorre com a sensação de choque elétrico que percorre dorso e membros inferiores aquando de uma flexão cervical^{1,13}.

Alguns sintomas instalados podem ser agravados pelo aumento da temperatura, parâmetro que pode também afetar a transmissão do impulso nervoso, bloqueando-o ou diminuindo-o. Este é chamado de fenómeno de Uhthoff¹⁴.

Classificação clínica da doença

A EM é capaz de se apresentar de diversas formas tendo em conta a evolução da incapacidade e o padrão da mesma¹⁵.

De acordo com a clínica, existem quatro classificações para a EM: **Esclerose múltipla surto remissão (EMSR) (A)** entende-se como sendo caracterizada por episódios de inflamação seguidos de remissão e representa cerca de 85% dos casos de EM. Nesta, a inflamação ao nível dos axónios é mais significativa do que a neurodegeneração¹²; **Esclerose múltipla progressiva secundária (EMPS) (B)** corresponde à EMSR que evoluiu para uma forma progressiva, o que significa que a

incapacidade decorrente dos efeitos patológicos nos neurónios é contínua, podendo, ou não, ser sobreposta por episódios de inflamação; **Esclerose múltipla progressiva primária (EMPP) (C)**, nesta a inflamação ocorre de forma contínua, assim como a neurodegeneração¹⁶, sem episódios agudos durante a progressão e são aproximadamente 15% dos casos de EM que manifestam este quadro; e **Esclerose múltipla progressiva/remitente (EMPR) (D)** que atinge aproximadamente 5% dos doentes com EM e na qual a progressão da neurodegeneração ocorre tanto em conjunto com episódios de inflamação como quando estes não estão a decorrer^{1,15,16}. A EM pode, no entanto, manifestar-se de forma benigna, ou seja, inicia-se como EMSR mas os doentes não alcançam nunca incapacidade neurológica^{1,17}. (**Figura 7**)

1.2 Diagnóstico

O diagnóstico desta patologia é árduo, não é definitivo e o desconhecimento da sua causa exata é um dos contributos para tal^{1,18}.

Assim, é através dos sintomas, história clínica e exames auxiliares como RMN, Punção Lombar (PL), exame no qual é recolhido líquido cefalorraquidiano, e Estudos de Potenciais Evocados (EPE), exame que permite detetar desmielinização através da verificação de lentidão na propagação do impulso nervoso, que se estabelece um diagnóstico^{3,18}. Este será facilitado caso o doente apresente sintomatologia durante vários anos. Em contrapartida, estádios iniciais da doença com baixa frequência e intensidade de sintomas dificultam uma conclusão da relação exata dos sintomas com a doença para o estabelecimento do diagnóstico¹⁸.

Por forma a facilitar o diagnóstico e a que este seja definido mais cedo em doentes que manifestaram SCI, em 2001, foram criados os Critérios de McDonald no seguimento de uma reunião do Painel Internacional de Diagnóstico da Esclerose Múltipla¹⁹. Destes foram feitas revisões em 2005²⁰, 2010²¹ (**Tabela 1**) e existe atualmente uma revisão feita em 2017 também pelo Painel Internacional de Diagnóstico da Esclerose Múltipla²² (**Tabela 2**).

1.3 Etiologia e Epidemiologia

Apesar de desconhecida, pensa-se que a etiologia da EM é multifatorial, envolvendo tanto fatores ambientais como de ordem genética, sendo ambos os desencadeantes da desregulação do sistema imunológico que caracteriza a fisiopatologia

da EM. Como exemplos do primeiro fator podem referir-se a infecção pelo vírus de Epstein-Barr (EBV), a deficiência em vitamina D e o hábito tabágico³. É possível também referir o consumo de sal como causa de exacerbações em doentes com EM, uma vez que os seu consumo excessivo foi associado à ativação de linfócitos T patogénicos autoreativos, nomeadamente à diferenciação de linfócitos Th17^{1,23,24}. Por último, pode-se referir a microbiota comensal intestinal como fator de risco. Esta tem ação na modulação da resposta imune sistémica e do intestino, habitando o mesmo. Um grupo de trabalho na EAE demonstrou, apesar de não estar estabelecido o envolvimento da microbiota comensal na EM, a relação entre a autoimunidade do SNC e a mesma²⁵.

Apesar de existir em todo o mundo²⁶, é na Europa e nas regiões norte da América do Norte que a EM é mais comum²⁷. A prevalência da patologia varia com a latitude²⁶ (**Figura 3**). O hemisfério norte apresenta-se como a região onde há maior frequência da doença. Nos Estados Unidos da América, a EM representa uma das principais causas de invalidez em jovens adultos³. Não sendo a distribuição por géneros ou faixa etária equitativa, a patologia é mais comum no sexo feminino em cerca de 3 vezes e manifesta-se com maior incidência entre os 20 e 40 anos. Entendida como uma patologia típica de adultos jovens, existe uma probabilidade baixa de manifestação antes dos 18 anos. A mesma conta com mais de 2,5 milhões de doentes diagnosticados em todo o mundo¹ e observou-se um aumento do seu número de 2008 para 2013. Este aumento estará provavelmente relacionado com as revisões dos critérios de diagnóstico²⁶.

1.4 Genética

Na população com ancestrais da Europa do Norte e da Escandinávia existe uma suscetibilidade genética para a EM. É possível verificar também a forte componente genética presente aquando da observação de grupos de famílias afetadas com EM, não sendo, no entanto, uma patologia de carácter hereditário³. O risco de EM é reconhecido como maior em indivíduos caucasianos em detrimento de africanos ou asiáticos¹. É possível afirmar que há uma poligenicidade na suscetibilidade à EM havendo, portanto, um conjunto de genes que dão o seu contributo parcelar, ainda que diminuto, para o risco de desenvolver a patologia. Neste conjunto identificam-se os vários genes que o CMH compreende, mais especificamente o gene HLA-DRB1 na região classe II, a parcela mais significativa deste contributo^{1,28}.

1.5 Necessidade de novas abordagens terapêuticas

No ano de 2013, de acordo com a Multiple Sclerosis International Federation (MSIF), cerca de 80% das pessoas diagnosticadas com EMSR tinham uma evolução da patologia e, assim sendo, desenvolviam EMPS²⁶. Nesta última, a incapacidade que decorre dos efeitos patológicos ao nível dos neurónios é contínua, ou seja, não há remissão, e pode ou não ser sobreposta com episódios de inflamação¹⁶.

Com o aumento do número de máquinas de RMN por pessoa em cerca de 50% (tendo em conta os dados fornecidos por 91 países englobando diferentes grupos de países de acordo com o seu rendimento nacional bruto, distinguidos pelo *World Bank*) de 2008 para 2013 assim como o aumento em 30% do número de neurologistas nesse mesmo intervalo de tempo, os locais onde é possível efetuar o diagnóstico, tratar e acompanhar os doentes com EM encontram-se assim mais preparados para esse mesmo efeito²⁶. Não obstante, esta melhoria não é suficiente dados os resultados percentuais das pessoas diagnosticadas com EMSR que evoluem para EMPS.

Os fármacos imunomoduladores, que correspondem a terapêuticas modificadoras da doença, têm sido uma abordagem terapêutica interessante relativamente à EMSR, uma vez que demonstraram eficácia na diminuição do número de surtos. Os interferões beta (IFN- β s) foram os primeiros compostos associados à terapêutica modificadora da doença, na década de 90. Apenas mais tarde foi introduzido no mercado um anticorpo monoclonal que demonstrou melhores resultados em termos de eficácia na redução de surtos, comparativamente aos IFN- β s. No entanto, há vários riscos relacionados com infeções, que estão associados a esta elevada eficácia demonstrada pelos novos imunomoduladores¹⁶.

Em alternativa, mas ainda em fases de desenvolvimento iniciais, é possível encontrar pequenas moléculas que atuam igualmente como imunomoduladores. Relativamente aos anticorpos monoclonais anteriormente referidos, estas novas moléculas não estão associadas ao risco de desenvolvimento de infeções. Daqui surge a possibilidade de se encontrarem alternativas mais seguras que, tal como as anteriores, vão ao encontro de um dos desafios da EM: retardar ou impedir a progressão da neurodegeneração cuja consequência é a incapacidade neurológica e assim, uma qualidade de vida comprometida¹⁶.

2. Integrinas e moléculas de adesão

Determinadas patologias têm como desencadeante a acumulação de leucócitos nos tecidos que, segundo a clínica, se apresentam como alvos para a inibição da inflamação a nível tecidual. Ao nível da EM, o sistema imunitário desempenha um papel preponderante, neste caso mediado por células T CD4+ ativadas contra a mielina do SNC, assim como células B³.

“As integrinas há muito que têm sido o foco da biotecnologia e da indústria farmacêutica como potenciais alvos na terapêutica”²⁹. Estas proteínas transmembranares integrais presentes nos linfócitos T³⁰, são heterodímeros do tipo I constituídas pelas subunidades α e β com capacidade de ligação a proteínas da matriz extracelular, a moléculas de adesão e também célula a célula³¹ (**Figura 4**). É notória a sua participação em diversos fenómenos biológicos como a angiogénese, cancro, inflamação e hemostase³². Como moléculas de adesão, assumem importância na sua capacidade de direcionar o fluxo de leucócitos através da BHE para locais onde, no SNC, esteja a decorrer um fenómeno inflamatório³⁰ (**Figura 5**).

A identificação da integrina específica que se encontra envolvida em determinada patologia pode, no entanto, ser complexa na medida em que não só a patologia pode ser multifatorial mas também tendo em conta a capacidade de ligação de cada integrina a diferentes subunidades³³.

Três das vinte e quatro integrinas humanas conhecidas até à data, são consideradas alvos terapêuticos que têm demonstrado benefícios na clínica para um número significativo de doentes. Dessas três, fazem parte: a integrina α IIb β 3 presente nas plaquetas e as integrinas α 4 β 1 e α 4 β 7 presentes nos linfócitos. Os fármacos que têm como alvo terapêutico a subunidade α 4 na realidade interagem tanto com as integrinas α 4 β 1 como com as α 4 β 7, isto devido à capacidade da subunidade α 4 estar associada tanto à subunidade β 1 como à β 7, formando no primeiro caso a VLA-4 e no segundo, a integrina α 4 β 7²⁹. A família α 4 encontra-se em diversas células do sistema imunitário como eosinófilos, macrófagos/ monócitos, linfócitos, células NK e mastócitos³⁰.

Nos leucócitos, as integrinas encontram-se num estado inativo³⁴. De modo a exercer a sua função, ou seja, a serem ativas, as integrinas interagem com os seus ligandos extracelulares, num processo denominado sinalização *outside-in*²⁹. Este processo permite a ativação de vias de sinalização na célula³³. A sequência conformacional da ativação inicia-se com a extensão dos domínios α e β ²⁹. Esta conformação é estabilizada

pela ligação dos ligandos extracelulares³⁵. Segue-se o rearranjo da interface entre ambos os domínios no sítio de ligação, terminando na separação dos domínios transmembranares²⁹, que permite que os sinais sejam transmitidos para o citoplasma³⁵.

Durante um surto da EM as citocinas inflamatórias presentes no endotélio têm a capacidade de sobre regular a VCAM-1 e a molécula-1 de adesão celular adressina das mucosas (MadCAM-1) das quais as integrinas $\alpha 4\beta 1$ e $\alpha 4\beta 7$, respetivamente, são recetores. Nesta situação, as integrinas, uma vez que têm um papel importante não só na adesão, mas também na sinalização celular, encontram-se envolvidas na patologia da EM. Como moléculas de adesão, a $\alpha 4\beta 1$ interage com a VCAM-1 e esta interação leva ao recrutamento de leucócitos ao local de inflamação. Após adesão, segue-se a migração para que estas células consigam alcançar o SNC. Assim, o bloqueio destas integrinas impede que as mesmas consigam interagir com as moléculas de adesão presentes no endotélio. Por consequência, bloqueia-se o recrutamento e também a migração dos linfócitos através da BHE. Deste modo seria possível impedir um dos fenómenos que está fortemente relacionado com a EM, mais especificamente, com os danos neuronais característicos da doença³⁰.

De forma a atuar nestes componentes, ligando-se ao sítio de ligação e impedindo a interação das integrinas com as moléculas de adesão, recorre-se a anticorpos monoclonais, pequenas moléculas e peptídeos²⁹.

“Todos os antagonistas das integrinas no mercado ou em estado avançado de ensaios clínicos têm como alvo o local de ligação das integrinas expressas em células presentes no sangue: leucócitos e plaquetas”²⁹

2.1 Integrinas presentes nos leucócitos

Com expressão em monócitos e linfócitos encontra-se a integrina $\alpha 4\beta 1$. Esta é caracterizada como relevante na função imunitária no que se refere ao tráfego de linfócitos e à migração de leucócitos no fenómeno inflamatório. Liga-se à VCAM-1, pertencente à superfamília de imunoglobulinas (IgSF), nas células endoteliais, e desempenha funções mediadoras da adesão e do rolamento³⁵.

Dado o fato de pertencer igualmente às integrinas $\alpha 4$, a $\alpha 4\beta 7$ partilha com a $\alpha 4\beta 1$ alguma da sua especificidade. Um anticorpo dirigido à integrina $\alpha 4$ irá, portanto, interagir com ambas as integrinas. A última desempenha funções no tráfego de linfócitos nos tecidos das mucosas, dada a capacidade de reconhecer a MadCAM-1³⁵.

2.2 Anticorpos Monoclonais

Natalizumab

O primeiro fármaco que, tendo como alvo as integrinas dos leucócitos, teve sucesso, é um anticorpo monoclonal IgG4 humanizado anti-integrina α_4 , com uma longa ação sobre as integrinas $\alpha_4\beta_1$ e $\alpha_4\beta_7$ ²⁹. O Natalizumab demonstrou a capacidade de diminuir de forma significativa a passagem da BHE pelos leucócitos³⁶. Isto derivado da sua ligação às integrinas presentes nos linfócitos que, em situação normal, interagem com a VCAM-1³⁷. Em consequência, esta capacidade permite reduzir o início da progressão da doença pela redução das recidivas uma vez que o anticorpo impede o alcance do SNC, mais propriamente da mielina dos axónios, pelos elementos da resposta imunitária com capacidade para destruírem a camada lipídica que recobre os axónios. Em acréscimo, este anticorpo, no que se refere à EMSR melhora consequências da patologia que advêm da perda da bainha de mielina³⁷.

Dado o resultado dos ensaios clínicos de fase I em 1997³⁸ que indicavam segurança e boa tolerância ao anticorpo, o desenvolvimento do Natalizumab prosseguiu para as fases seguintes. No ensaio de Sheremata *et al.* (1999), foi administrado apenas o anticorpo via intravenosa. Mais tarde, no ensaio de Vollmer *et al.* (2004), o anticorpo foi administrado pela mesma via em combinação com IFN- β ³⁷. Nestes ensaios, o objetivo era comparar o Natalizumab com um placebo relativamente à eficácia num ensaio aleatorizado e controlado. Nestes era feito um seguimento recorrendo a RMNs durante 6 meses após duas doses de Natalizumab ou placebo com um intervalo de 1 mês. Foi constatada uma diminuição de novas lesões ativas nas pessoas que receberam as doses de Natalizumab comparativamente às pessoas que receberam o placebo³⁷.

Seguiram-se os ensaios clínicos de fase III em 2001 em doentes com EM recidivante que, selecionados de forma aleatória, receberam doses de 300 mg mensais do anticorpo via intravenosa durante um período superior a dois anos em paralelo com os restantes doentes que receberam placebo durante o mesmo período de tempo. O Natalizumab demonstrou ao longo desses dois anos diminuir o risco de progressão da incapacidade relacionada com a patologia em 42%. Mais ainda se pode dizer que, em relação à acumulação de lesões ou aparecimento de novas, obtiveram-se resultados coerentes com uma diminuição de 83%³⁹.

Em 2004 o anticorpo recebeu a aprovação para comercialização pela *Food and Drug Administration*³⁸.

Foi em 2005 que o Natalizumab foi retirado voluntariamente do mercado dado o risco de desenvolvimento de uma infecção oportunista no cérebro conhecida como Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva (LMP)⁴⁰. Esta ocorre devido ao poliomavírus humano de John Cunningham (JC) que, interagindo com o hospedeiro, desenvolve a sua forma patogénica e atua sobre o mesmo, deixando-o vulnerável. A LMP tem capacidade de, após o desenvolvimento da forma patogénica do vírus JC, atuar no SNC destruindo os oligodendrócitos⁴¹. A incidência desta infecção foi de 1 caso em 100 doentes sujeitos ao tratamento, durante os ensaios clínicos⁴⁰.

Foram identificados como fatores de risco para a LMP: a utilização de imunossuppressores antes do tratamento com o Natalizumab, tratamento prolongado com o mesmo e a presença de anticorpos anti JC. Reconheceram-se estes dados relativos à segurança após o estabelecimento de um programa intensivo de gestão global de risco, o que permitiu novamente a introdução do Natalizumab no mercado em 2006⁴⁰ (**Figura 6**).

2.3 Antagonistas das integrinas

As pequenas moléculas antagonistas das integrinas são entendidas como igualmente interessantes no que se refere ao tratamento da EM. Isto porque sendo adequadas para administração oral, fornecem a possibilidade ao doente de seguir a terapêutica sem recorrer a hospitais com periodicidade mensal. Outro ponto que surge como vantagem das pequenas moléculas está relacionado com efeitos adversos. O facto do tempo de semivida das pequenas moléculas, relativamente ao Natalizumab, ser de algumas horas, portanto inferior, permite que as pequenas moléculas sofram eliminação nesse espaço de tempo. Assim, este tempo de semivida inferior leva a uma maior velocidade de eliminação das moléculas permitindo que qualquer efeito adverso que possa ocorrer seja rapidamente resolvido. A nível económico esta opção de tratamento fornece igualmente um ponto vantajoso na medida em que as pequenas moléculas têm um menor custo relativamente às terapêuticas com anticorpos, tendo em conta a sua administração e a sua produção³⁰.

O mecanismo essencial para que as pequenas moléculas sejam importantes antagonistas das integrinas $\alpha 4$ prende-se com a interação entre o grupo carboxílico

destas pequenas moléculas com um catião da subunidade das integrinas. Isto é confirmado pela perda de atividade decorrente da substituição ou remoção do grupo ácido carboxílico^{30,33}. Este grupo ácido carboxílico está inserido numa porção N-fenilalanina-N-aryl comum em pequenas moléculas antagonistas das integrinas³².

Contudo é importante referir a baixa absorção a nível gastrointestinal destas moléculas. Uma solução pode passar pela transformação das mesmas em pró-fármacos na medida em que pode levar a um aumento, a nível gastrointestinal, da absorção. Esta é, portanto, uma condição para contornar esta desvantagem que advém, entre outros, da natureza aniónica que é característica de antagonistas potentes³⁰. Outra dificuldade farmacocinética prende-se com a excreção biliar e acumulação dos compostos no ducto biliar³⁰.

Apesar da indústria farmacêutica ter vindo a desenvolver estas ditas pequenas moléculas antagonistas das integrinas, nenhuma das mesmas entrou, até agora, no mercado²⁹.

Firategrast

Pequena molécula antagonista das integrinas que demonstrou eficácia em doentes com EMSR ao atuar na integrina $\alpha 4$ ³⁶ Firategrast é assim um duplo antagonista dada a ligação tanto à integrina $\alpha 4\beta 1$ como à $\alpha 4\beta 7$ ³².

Surge como uma alternativa com um tempo de semivida menor do que o anterior anticorpo, sendo a mesma diminuída para cerca de 2-5 h, levando assim a uma eliminação mais rápida do Firategrast com conseqüente reversão dos efeitos da molécula no organismo em caso de alterações ao nível da tolerância e segurança. Para além deste benefício, pode-se inclusive mencionar o facto de ser ativo *per os* que torna a administração mais fácil para o doente comparativamente à via intravenosa³⁶.

Num ensaio clínico multicêntrico, de fase II, aleatorizado, duplamente cego, controlado por placebo e dose dependente em doentes com EMSR foi avaliado o nível de redução de novas lesões observadas por RMN de acordo com diferentes doses de Firategrast.

Um dos resultados demonstrou uma diminuição em cerca de 49% para a dose de 900 mg e 1200 mg da molécula. Todas as doses foram bem toleradas e não foram detetados casos de LMP nem reativações do vírus de JC. Não obstante, não foi possível estabelecer uma relação direta entre a dose de fármaco e a resposta³⁶. Uma desvantagem

desta pequena molécula será o facto de, ao nível do número de surtos, não se ter demonstrado uma significativa diminuição⁴².

Foi também investigada, em 2012, a capacidade desta pequena molécula para alterar o número de leucócitos presentes no líquido cefalorraquidiano. O resultado demonstrou que esta molécula consegue efetivamente diminuir de forma não acentuada o número de determinados linfócitos como os CD4, CD8 e CD19 ao nível do líquido cefalorraquidiano. Posto isto prevê-se que o espaço subaracnoide continua a ser alcançado pelos linfócitos⁴³. Assim, a informação que existe é a de que este antagonista foi descontinuado³².

CT301

Esta pequena molécula desenvolvida pela Elan Pharmaceuticals na Califórnia, testada na Encefalomielite Experimental Alérgica, um modelo animal de EM, demonstrou reverter as manifestações da patologia nos animais testados. Este resultado leva assim à consideração desta como um provável antagonista da integrina $\alpha 4\beta 7$ no tratamento da EM⁴⁴. Não foram, no entanto, encontradas informações relativas a ensaios clínicos, quer relacionadas com a sua realização ou previsão da mesma.

CDP323

Desenvolvida pela *Union Chimique Belge* (UCB), esta molécula, uma fenilalanina enamida que atua como antagonista da integrina $\alpha 4$ ⁴⁵, demonstrou uma prolongada e forte inibição da VCAM-I³⁰. O seu potencial como terapêutica alternativa surge, entre outros, da sua elevada especificidade para a referida integrina⁴⁵. Também este antagonista, tal como o Finategrast, tem um tempo de semivida curto que permite eliminação rápida da molécula do organismo em caso de necessidade de término da terapêutica por motivos de reações adversas à molécula em causa^{30,45}.

As propriedades anti-inflamatórias do CDP323 foram demonstradas em estudos pré-clínicos. Por sua vez, ensaios clínicos de fase I em 2003³⁰ tiveram resultados concordantes com uma inibição potente e eficaz da integrina $\alpha 4$ numa dosagem até 1000 mg da molécula, duas vezes por dia, bem tolerada⁴⁵.

Através de um ensaio clínico de fase I e II, chegou-se à conclusão que o CDP323, comparativamente com o Natalizumab, tem o mesmo efeito no número total de

linfócitos a nível periférico e células B maduras e imaturas em circulação, aumentando-os. No entanto, não se demonstrou diferença de forma significativa no número de células T inflamatórias ou monócitos circulantes⁴⁵.

HCA355 I

Esta pequena molécula sintetizada recentemente e administrada por via oral, parece inibir a ligação da integrina $\alpha 4$ à VCAM-I e demonstrou capacidade de diminuir o desenvolvimento da Doença Desmielinizante Induzida pelo Vírus da Encefalomielite Murina de Theiler (DDI-VEMT), modelo animal de EM, não só em termos de manifestações clínicas, mas também a nível histológico na fase efetora da DDI-VEMT. A eficácia da molécula foi demonstrada pelo decréscimo de forma significativa do número de células mononucleares inflamatórias infiltradas no SNC dos ratos tratados com o fármaco⁴⁶.

3. Perspetivas futuras

Descobertas há mais de 25 anos,³³ as integrinas são atualmente alvos atrativos no que se refere à terapêutica da EM, para travar um dos passos do fenómeno inflamatório, que é o extravasamento da BHE. O bloqueio da sua interação com ligandos na superfície das células endoteliais permite reduzir surtos que levam à perda da capacidade neurológica³⁰. Mesmo com o Natalizumab no mercado, os antagonistas destas proteínas surgem como alternativas à terapia com anticorpos. Estes antagonistas possuem no entanto algumas características que têm ainda que ser exploradas para da melhor forma serem desenvolvidos e dar resposta às atuais necessidades de alternativas terapêuticas para a EM³⁰.

A baixa absorção gastrointestinal das pequenas moléculas surge como uma destas características onde, o peso molecular, área de superfície polar e grupo ácido carboxílico assumem importância para contornar a mesma. Ainda ao nível da farmacocinética, foi já referida a acumulação das moléculas no ducto biliar³⁰.

Posto isto, as perspetivas futuras centram-se no aperfeiçoamento das características que impedem melhores resultados das moléculas antagonistas no que toca ao alcance das integrinas, ou seja, à passagem do trato intestinal para a circulação,

e também das características relacionadas com a especificidade com objetivo de diminuição de possíveis efeitos adversos que a falta da mesma pode provocar.

4. Conclusão

Até ao ano de 1993, os doentes com EM tinham uma evolução rápida da doença atingindo incapacidade neurológica em poucos anos dado não existir tratamento que fosse efetivo para retardar a neurodegeneração¹². Esforços foram reunidos em busca da solução a esta lacuna. O tratamento direcionado para a inflamação tem sido valorizado, vista a importância da mesma na EM¹⁶.

Surgiram assim as integrinas como alvos terapêuticos, visto terem complexos papéis em várias patologias, inclusive a EM³³. As terapias modificadoras da doença revelaram-se extremamente favoráveis e destas pode-se referir o anticorpo monoclonal Natalizumab como o primeiro a atuar na EM através da ligação às integrinas $\alpha4\beta1$ e $\alpha4\beta7$, impedindo a passagem da BHE pelos linfócitos T¹⁶. Dados os incómodos e desvantagens relacionados com a terapia com este anticorpo, surge o Finategrast com características mais interessantes para o doente.

Ao longo dos anos têm continuamente surgido novas moléculas, pequenas moléculas antagonistas das integrinas como alternativa aos anticorpos com potencial terapêutico demonstrado pelos resultados dos ensaios clínicos no que toca à diminuição do número de leucócitos e linfócitos T no SNC. Estas alternativas, ou outras que venham a ser desenvolvidas e que apresentem o mesmo mecanismo de ação, têm o objetivo de retardar ou impedir a progressão da doença. No entanto, será necessário alcançar resultados de eficácia e segurança em ensaios clínicos relacionados com a capacidade de atuar sobre a inflamação através da diminuição da passagem de células para o SNC de tal forma significativa que permita ir ao encontro do objetivo referido.

Em resumo e pelo exposto, pode concluir-se que a terapêutica com anticorpos monoclonais anti-integrinas, como o Natalizumab, representa um enorme avanço na terapêutica da EM, mas continua a ser necessário desenvolver novos fármacos mais eficazes e seguros e com melhor perfil farmacocinético. Neste âmbito, os pequenos fármacos antagonistas das integrinas representam alternativas com elevado potencial terapêutico que se espera que venham a permitir retardar ou mesmo impedir a progressão da doença, modificando a sua história natural e, conseqüentemente, melhorando a saúde e a qualidade de vida dos doentes com EM.

5. Referências Bibliográficas

1. STEPHEN L. H. and DOUGLAS S. G. - **Multiple Sclerosis and other demyelinating diseases.** In: KASPER, D., FAUCI, A., HAUSER, S., LONGO, D., JAMESON, J. L. and LOSCALZO, J. Harrison's Principles of Intern Medicine. 19th Edition. New York, Chicago, San Francisco, Athens, London, Madrid, Mexico City, Milan, New Delhi, Singapore, Sydney, Toronto: McGraw-Hill Education, 2015. ISBN: 978-0-07-180216-1. p.2661-2672.
2. SPEM Sociedade Portuguesa de Esclerose Múltipla - **O que é a Esclerose Múltipla?** Lisboa: SPEM, 2018 [Consultado a 11 de julho de 2018 às 19:14h] Disponível na Internet: <http://www.spem.pt/esclerose-multipla/o-que-e-a-esclerose-multipla>.
3. GARG, N. and SMITH, T. W. - **An update on immunopathogenesis, diagnosis, and treatment of multiple sclerosis.** *Brain Behav.* **5**, (2015). doi: 10.1002/brb3.362
4. KIPP, M., VALK, P. and AMOR, S. - **Pathology of Multiple Sclerosis.** *CNS Neurol. Disord. - Drug Targets* **11:5** (2012) 506–517. doi: 10.2174/187152712801661248
5. LASSMANN, H. - **Mechanisms of white matter damage in multiple sclerosis.** *Glia* **62**, (2014) 1816–1830. doi: 10.1002/glia.22597
6. AVASARALA, J. R. - **Clinically isolated syndrome - Rethinking the diagnosis.** *J. Neurol. Sci.* (2015). doi: 10.1016/j.jns.2015.04.008
7. KASPER, L. H. and SHOEMAKER, J. - **Multiple sclerosis immunology: The healthy immune system vs the MS immune system.** *Neurology* **74**, (2010). doi: 10.1212/WNL.0b013e3181c97c8f
8. PRYCE, G. and BAKER, D. - **Oligoclonal bands in multiple sclerosis; functional significance and therapeutic implications. Does the specificity matter?** *Mult. Scler. Relat. Disord.* (2018) doi:10.1016/j.msard.2018.07.030
9. TINTORÉ, M., ROVIRA, A., RÍO, J., TUR, C., PELAYO, R., NOS, C., TÉLLEZ, N., PERKAL, H., COMABELLA, M., SASTRE-GARRIGA, J. and MONTALBAN, X. - **Do oligoclonal bands add information to MRI in first attacks of multiple sclerosis?** *Neurology* **70**, (2008) 1079–1083. doi: 10.1212/01.wnl.0000280576.73609.c6
10. HEMMER, B. and SELTER, R. - **Update on immunopathogenesis and immunotherapy in multiple sclerosis.** *ImmunoTargets Ther.* **12**, (2013) 21-30

doi:10.2147/ITT.S31813

11. CROSS, A. H. and PICCIO, L. - **Immunopathogenesis of Multiple Sclerosis.** *Mult. Scler. CNS Inflamm. Disord.* (2014) 10–17 doi: 10.1002/9781118298633.ch2
12. MINAGAR, A. - **Current and future therapies for multiple sclerosis.** *Sci.* (2013) doi: 10.1155/2013/249101
13. TRUINI, A., BARBANTI, P., POZZILLI, C. and CRUCCU, G. - **A mechanism-based classification of pain in multiple sclerosis.** *J. Neurol.* **260**, (2013) 351–367 doi: 10.1007/s00415-012-6579-2
14. FROHMAN, T. C., DAVIS, S. L., BEH, S., GREENBERG, B. M., REMINGTON, G. and FROHMAN, E. M. - **Uhthoff's phenomena in MS - Clinical features and pathophysiology.** *Nat. Rev. Neurol.* **9**, (2013). doi: 10.1038/nrneurol.2013.98
15. CONFAYREUX, C. and VUKUSIC, S. - **Natural history of multiple sclerosis: A unifying concept.** *Brain* **129**, (2006) 606–616 doi: 10.1093/brain/awl007
16. CURTIN, F. and HARTUNG, H.-P. - **Novel therapeutic options for multiple sclerosis.** *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* **7**, (2014) 91–104 doi: 10.1586/17512433.2014.865517
17. SPEM Sociedade Portuguesa de Esclerose Múltipla - **Tipos de EM.** Lisboa: SPEM, 2016 [Consultado a 18 de julho de 2018 às 17:30h] Disponível na Internet: <http://www.spem.pt/esclerose-multipla/tipos-em>.
18. SPEM Sociedade Portuguesa de Esclerose Múltipla - **Diagnóstico.** Lisboa: SPEM, 2010 [Consultado a 14 de julho de 2018 às 18:53h] Disponível na Internet: <http://www.spem.pt/esclerose-multipla/diagnostico>.
19. McDONALD, W., COMPSTON, A., EDAN, G., GOODKING, D. and HARTUNG, H. - **Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis.** *Ann. Neurol.* **50:1** (2001) 121-127 doi: 10.1002/ana.1032
20. POLMAN, C. H., REINGOLD, S. C., EDAN, G., FILIPPI, M., HARTUNG, H.-P., KAPPOS, L., LUBLIN, F. D., METZ, L. M., MCFARLAND, H. F., O'CONNOR, P. and SANDBERG-WOLLHEIM, M. - **Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: 2005 Revisions to the "McDonald Criteria".** *Ann. Neurol. Neurol.* **58:6** (2005) 840–846 doi: 10.1002/ana.20703
21. MILO, R. and MILLER, A. - **Revised diagnostic criteria of multiple sclerosis.** *Autoimmun. Rev.* **13**, (2014) 518–524 doi: 10.1016/j.autrev.2014.01.012

22. McNicholas, N., Hutchinson, M., McGuigan, C. and Chataway, J. - **2017 McDonald diagnostic criteria: A review of the evidence.** *Mult. Scler. Relat. Disord.* **24**, (2018) 48–54 doi: 10.1016/j.msard.2018.05.011
23. Farez, M. F., Fiol, M. P., Gaitán, M. I., Quintana, F. J. and Correale, J. - **Sodium intake is associated with increased disease activity in multiple sclerosis.** *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **86**, (2014) 26–31 doi: 10.1136/jnnp-2014-307928
24. Haase, S., Wilck, N., Kleinewietfeld, M., Müller, D. N. and Linker, R. A. - **Sodium chloride triggers Th17 mediated autoimmunity.** *J. Neuroimmunol.* (2018) doi: 10.1016/j.jneuroim.2018.06.016
25. Yadav, S. K., Mindur, J. E., Ito, K. and Dhib-Jalbut, S. - **Advances in the immunopathogenesis of multiple sclerosis.** *Curr. Opin. Neurol.* **28**, (2015) 206–219 doi: 10.1097/WCO.0000000000000205
26. MULTIPLE SCLEROSIS INTERNATIONAL FEDERATION (MSIF) - **Atlas of MS 2013: Mapping Multiple Sclerosis Around the World.** London: Multiple Sclerosis International Federation, 2013 [Consultado a 6 de agosto de 2018 às 20:50h] Disponível na Internet: <https://www.msif.org/wp-content/uploads/2014/09/Atlas-of-MS.pdf>
27. Goodin, D. S. - **The epidemiology of multiple sclerosis: insights to disease pathogenesis.** in: Goodin, D. S. *Handbook of Clinical Neurology* **122**. San Francisco: Elsevier B.V., 2014. ISBN: 0072-9752. p.231-266.
28. THE INTERNATIONAL MULTIPLE SCLEROSIS GENETICS CONSORTIUM & THE WELLCOME TRUST CASE CONTROL CONSORTIUM 2 - **Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis.** *Nature.* **476**, (2011) 214–219 doi: 10.1038/nature10251
29. Ley, K., Rivera-Nieves, J., Sandborn, W. J. and Shattil, S. - **Integrin-based therapeutics: Biological basis, clinical use and new drugs.** *Nat. Rev. Drug Discov.* **15:3** (2016) 173–183 doi: 10.1038/nrd.2015.10
30. Davenport, R. J. and Munday, J. R. - **Blocking α 4-integrins - A small molecule approach to treatment of multiple sclerosis.** *J. Neurol. Sci.* **274**, (2008) 27–30 doi: 10.1016/j.jns.2008.05.025
31. Pouwels, J., Nevo, J., Pellinen, T., Ylänne, J. and Ivaska, J. - **Negative regulators of integrin activity.** *J. Cell Sci.* **125**, (2012) 3271–3280 doi: 10.1242/jcs.093641

32. HALLAND, N., BLUM, H., BUNING, C., KOHLMANN, M. and LINDENSCHMIDT, A. - **Small Macrocycles As Highly Active Integrin $\alpha 2 \beta 1$ Antagonists.** *ACS Med. Chem. Lett.* **5**, (2014) 193-198. doi: /10.1021/ml4004556
33. COX, D., BRENNAN, M. and MORAN, N. - **Integrins as therapeutic targets: Lessons and opportunities.** *Nat. Rev. Drug Discov.* **9**, (2010) 804–820. doi: 10.1038/nrd3266
34. LUSTER, A. D., ALON, R. and VON ANDRIAN, U. H. - **Immune cell migration in inflammation: Present and future therapeutic targets.** *Nat. Immunol.* **6:12** (2005) 1182–1190 doi: 10.1038/ni1275
35. SHIMAOKA, M. and SPRINGER, T. A. - **Therapeutic antagonists and conformational regulation of integrin function.** *Nat. Rev. Drug Discov.* **2**, (2003) 703–716 doi: 10.1038/nrd1174
36. MILLER, D. H., WEBER, T., GROVE, R., WARDELL, C., HERRIGAN, J., GRAFF, O., ATKINSON, G., DUA, P., YOUSRY, T., MACMANUS, D. and MONTALBAN, X. - **Fingertinib for relapsing remitting multiple sclerosis: A phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled trial.** *Lancet Neurol.* **11**, (2012) 131–139 doi:10.1016/S1474- 4422(11)70299-X
37. GUPTA, S. and WEINSTOCK-GUTTMAN, B. - **Natalizumab for multiple sclerosis: appraising risk versus benefit, a seemingly demanding tango.** *Expert Opin. Biol. Ther.* **14**, (2014) 115–126 doi: 10.1517/14712598.2014.864634
38. RUDICK, R., POLMAN, C., CLIFFORD, D., MILLER, D. and STEINMAN, L. - **Natalizumab: Bench to bedside and beyond.** *JAMA Neurol.* **70:2** (2013) 172–182 doi: 10.1001/jamaneurol.2013.598
39. POLMAN, C. H., O’CONNOR, P. W., HAVRDOVA, E., HUTCHINSON, M., KAPPOS, L., MILLER, D. H., PHILIPS, T., LUBLIN, F. D., GIOVANNONI, G., WAJGT, A., TOAL, M. M. B., LYNN, F., PANZARA, M. A., SANDROCK, A. W. - **A randomized placebo-controlled trial for Natalizumab.** *N. Engl. J. Med.* **364:9** (2005) 1315–1323 doi: 10.1056/nejmoa044397
40. BLOOMGREN, G., RICHMAN, S., HOTERMANS, C., SUBRAMANYAM, M., GOELZ, S., NATARAJAN, A., LEE, S., PLAVINA, T., SCANLON, J. V., SANDROCK, A. and BOZIC, C. - **Risk of Natalizumab-Associated Progressive Multifocal Leukoencephalopathy.** *N. Engl. J. Med.* **366**, (2012) 1870–1880 doi: 10.1056/NEJMoa1107829

41. TAN, C. S. and KORALNIK, I. J. - **Progressive multifocal leukoencephalopathy and other disorders caused by JC virus: clinical features and pathogenesis.** *Lancet Neurol.* **9**, (2010) 425–437 doi: 10.1016/S1474-4422(10)70040-5
42. HAGHIKIA, A., HOHLFELD, R., GOLD, R. and FUGGER, L. - **Therapies for multiple sclerosis: Translational achievements and outstanding needs.** *Trends Mol. Med.* **19:5** (2013) 309–319 doi: 10.1016/j.molmed.2013.03.004
43. GROVE, R. A., SHACKELFORD, S., SOPPER, S., PIRRUCCELLO, S., HARRIGAN, J., HAVRDOVA, E., GOLD, M. and GRAFF, O. - **Leukocyte counts in cerebrospinal fluid and blood following fingert treatment in subjects with relapsing forms of multiple sclerosis.** *Eur. J. Neurol.* **20**, (2013) 1032–1042 doi: 10.1111/ene.12097
44. PIRAINO, P. S., YEDNOCK, T. A., FREEDMAN, S. B., MESSERSMITH, E. K., PLEISS, M. A., VANDEVERT, C., THORSETT, E. D. and KARLIK, S. J. - **Prolonged reversal of chronic experimental allergic encephalomyelitis using a small molecule inhibitor of alpha4 integrin.** *J Neuroimmunol* **131**, (2002) 147–159 doi: 10.1016/S0165-5728(02)00273-4
45. WOLF, C., SIDHU, J., OTOUL, C., MORRIS, D. L., CNOPS, J., TAUBEL, J. and BENNETT, B. - **Pharmacodynamic Consequences of Administration of VLA-4 Antagonist CDP323 to Multiple Sclerosis Subjects: A Randomized, Double-Blind Phase I/2 Study.** *PLoS One* **8:3** (2013) 1–9 doi: 10.1371/journal.pone.0058438
46. HIRANO, Y., KOBAYASHI, K., TOMIKI, H., INABA, Y., ICHIKAWA, M., KIM, B. S. and KOH, C. S. - **The role of $\alpha 4$ integrin in Theiler's murine encephalomyelitis virus (TMEV)-induced demyelinating disease: An infectious animal model for multiple sclerosis (MS).** *Int. Immunol.* **28:12** (2016) 575–584 doi: 10.1093/intimm/dxw045

6. Anexos

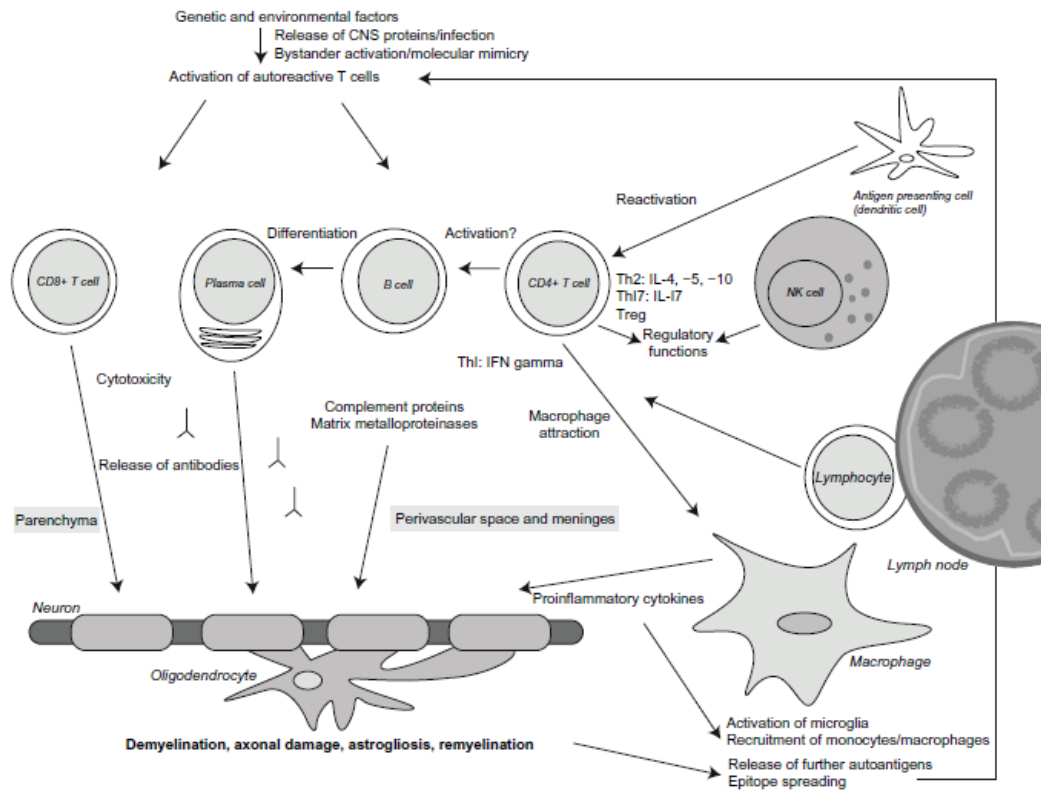


Figura 8 Immunopatologia da EM (Reproduzido de: Hemmer, B., Selzer, R., 2013)

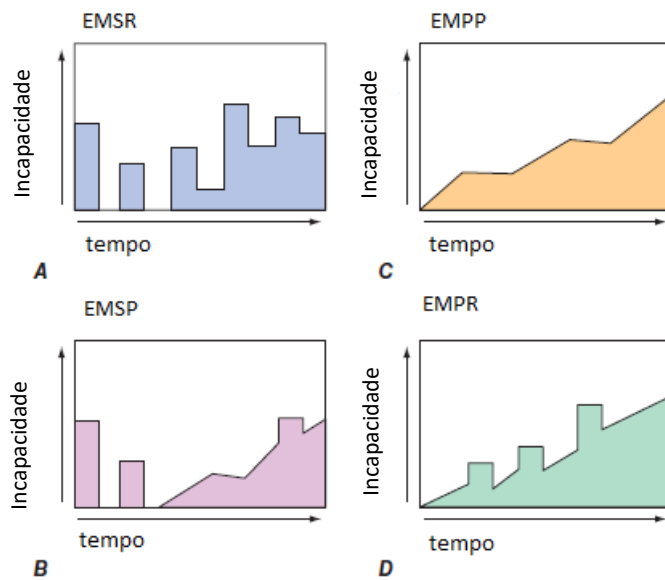


Figura 9 Quadro clínico da EM (adaptado de: Kasper *et al.* 2015); Legenda: EMPP-Esclerose Múltipla Progressiva Primária; EMPR-Esclerose Múltipla Progressiva/Remitente; EMSP-Esclerose Múltipla Progressiva Secundária; EMSR-Esclerose Múltipla Surto Remissão;

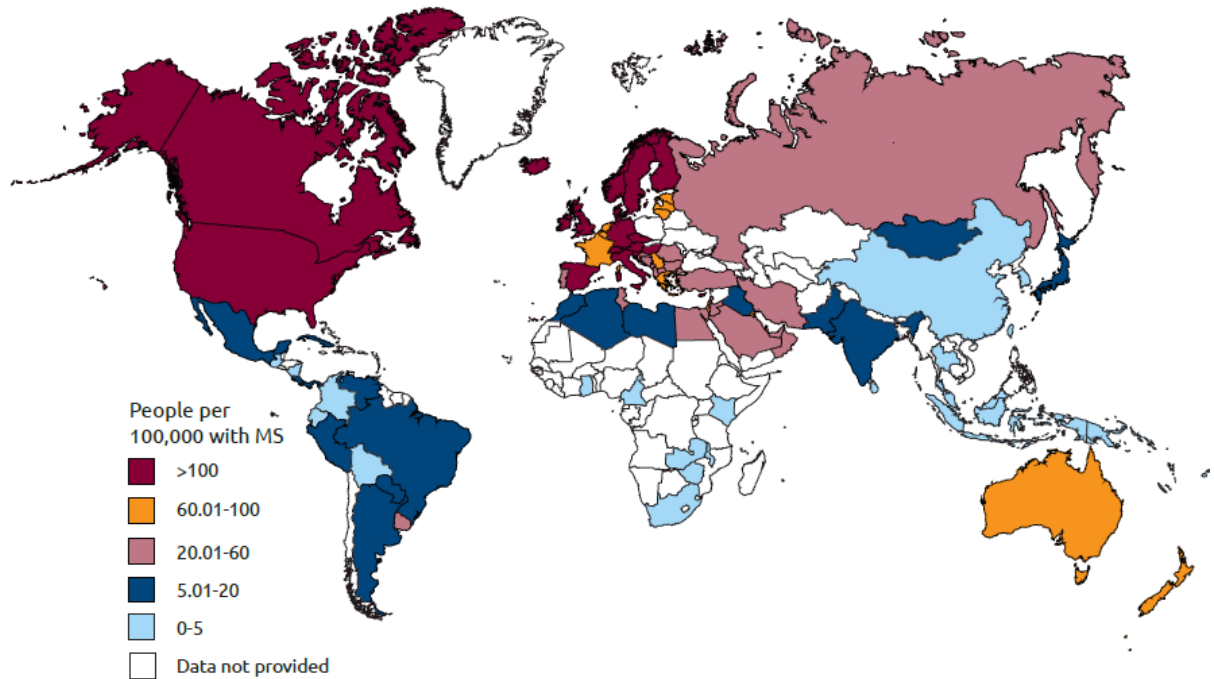


Figura 3 Prevalência da EM por país em 2013 (Reproduzido de: Atlas of MS 2013: Mapping Multiple Sclerosis Around the World. Multiple Sclerosis International Federation, 2013)

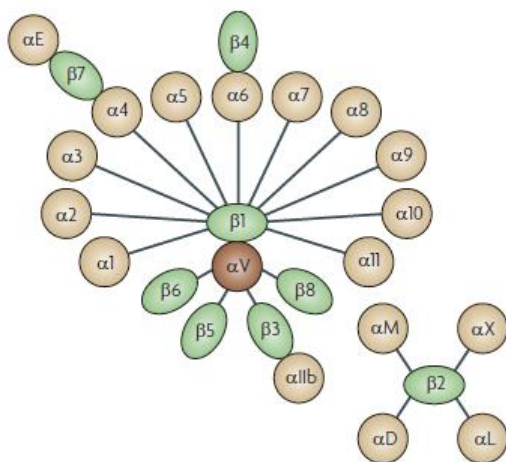


Figura 4 Subunidades das integrinas e respectivas interações (Reproduzido de: Cox, D. et al. 2010)

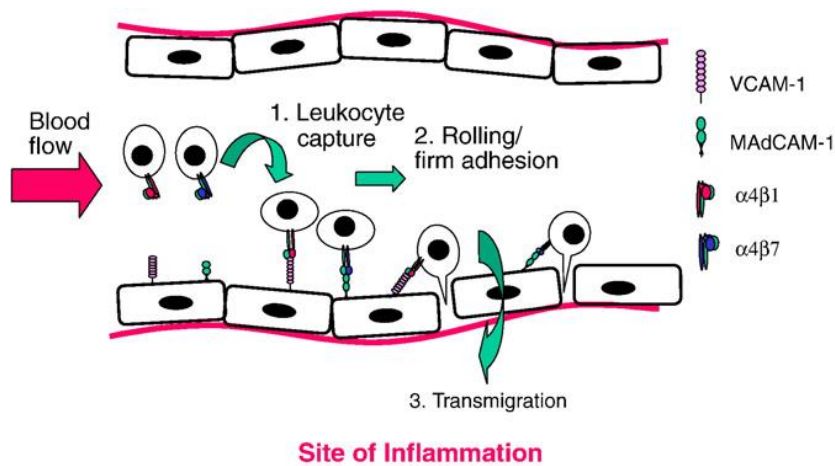


Figura 5 Etapas da transmigração de leucócitos mediada pelas integrinas α_4 (Reproduzido de: Davenport R. *et al.* 2008)

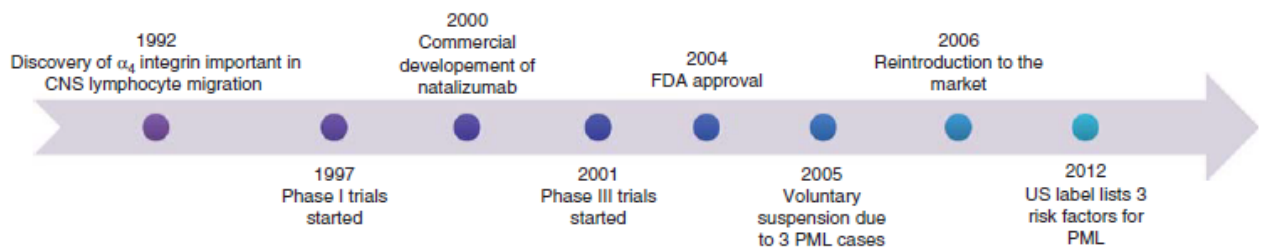


Figura 6 Cronologia do desenvolvimento do Natalizumab (Reproduzido de: Rudick R, Polman C, Clifford D, *et al* 2013)

Tabela 2 Critérios de diagnóstico de McDonald (Adaptado de: Milo, R., Miller, R., 2014)

Manifestação Clínica	Dados Adicionais para o Diagnóstico da EM
≥2 surtos; evidência clínica objetiva de ≥2 lesões ou evidência clínica de uma lesão com um histórico razoável de evidência de 1 surto anterior	Nenhum
≥2 surtos; evidência clínica de 1 lesão	Disseminação no espaço demonstradas por: ≥1 lesões na T2 em, pelo menos, duas de 4 regiões típicas de EM no CNS; Ou aguardar um próximo surto num diferente local no SNC
1 surto; evidência clínica de ≥2 lesões	Disseminação no tempo demonstradas por RMN Ou segundo surto
1 surto; Evidência clínica objetiva de uma lesão (SCI)	Disseminação no espaço demonstrada por RMN Ou ≥2 lesões sugestivas de EM e LCR com BOs e Disseminação no tempo demonstrada por RMN Ou segundo surto
Progressão neurológica insidiosa sugestiva de EM	Um ano de progressão da doença (determinada em prospeção) e dois ou mais dos seguintes critérios: 1. RMN encefálica com 9 lesões em T2 ou ≥ 4 lesões em T2 e PEvs positivos 2. RMN medular com duas ou mais lesões na T2 3. Presença de BOs no LCR

Tabela 2 Evolução dos critérios de RMN para a disseminação no espaço e no tempo, Critérios de McDonald (Adaptado de: McNicholas, N., Hutchinson, M., McGuigan, C. et al 2018)

	Critérios de McDonald 2010	Critérios de McDonald 2017
Disseminação no espaço	<p>≥1 lesões em cada uma de ≥2 zonas características:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Periventricular • Justacortical • Infratentorial • Espinal Medula • Todas as lesões em regiões sintomáticas excluindo tronco cerebral e síndromes da espinal medula 	<p>≥1 lesões em cada uma de ≥2 zonas características:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Periventricular • Justacortical/Cortical • Infratentorial • Espinal Medula • Todas as lesões nas regiões sintomáticas incluídas
Disseminação no tempo	Uma nova lesão em T2 em seguimento de RMN independentemente do timing do scanner da linha de base	Uma nova lesão na T2 em seguimento de RMN independentemente do timing do scanner da linha de base
	Lesões que aumentam e lesões que se mantêm de forma concomitante, assintomáticas.	Lesões que aumentam e lesões que se mantêm de forma concomitante, sintomáticas ou assintomáticas. As lesões no nervo óptico são uma exceção