



UNIVERSIDADE DE
COIMBRA



Ana Rita Lopes Félix

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “MicroRNAs no sangue como biomarcadores da Depressão *Major*: diagnóstico e avaliação de tratamento” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, respetivamente, do Dr. André Duarte, Dr. Jorge Félix e da Professora Doutora Maria Celeste Lopes e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2018

Ana Rita Lopes Félix

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “MicroRNAs no sangue como biomarcadores da Depressão *Major*: diagnóstico e avaliação de tratamento”, sob orientação do Dr. André Duarte, Dr. Jorge Félix e da Professora Doutora Maria Celeste Lopes, 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 D
COIMBRA

A stylized, thick black letter 'U' logo, which is a common symbol for the University of Coimbra.

Eu, Ana Rita Lopes Félix, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2013149732, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “MicroRNAs no sangue como biomarcadores da Depressão *Major*: diagnóstico e avaliação de tratamento” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular de “Estágio”. 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, 6 de setembro de 2018

(Ana Rita Lopes Félix)

Agradecimentos

Aos meus pais, Sérgio e Luísa, que nunca deixaram de acreditar em mim, mesmo quanto eu própria duvidava. Sempre com uma palavra de apoio em todos os momentos, bons e maus, e com um apoio sempre presente. Um obrigada não é suficiente por tudo o que fazem por mim todos os dias!

Ao meu irmão, Francisco, pelo apoio e compreensão que teve durante toda esta aventura. Sempre com uma palavra de apoio humorística, e toda a competição por desejar que eu seja a minha melhor versão, um obrigada do tamanho do mundo!

À minha família, avós, tios e primos, que sempre acreditaram que eu conseguia ir mais além, que me deram todo o apoio necessário para a realização dos meus sonhos.

Aos meus amigos, que nos bons e maus momentos, partilharam comigo momentos de convívio, com risos e lágrimas, todo o apoio deles foi necessário para que conseguisse chegar a este momento. Um agradecimento especial às amigas Jardineiras, às Rosas do bouquet, à minha caloirinha Mariana, à minha madrinha Rita e aos amigos de casa, que sempre que precisava, estavam lá para ajudar.

Aos professores, pela transmissão de conhecimento durante todo o meu percurso académico. Um agradecimento especial à Professora Doutora Maria Celeste Lopes, pela paciência, ajuda e amizade durante a concretização deste objetivo.

A toda a equipa da Farmácia Central de Rio Maior, pelo cuidado de me integrarem na equipa e ajudarem em qualquer altura do meu estágio, tornando a minha aprendizagem em farmácia comunitária muito mais divertida e didata.

À Exigo Consultores, pela oportunidade que me deram de integrar na empresa e aprender mais na área de farmacoeconomia. Um agradecimento especial ao Dr. Jorge Félix e ao Dr. César Ferreira, pela paciência e transmissão de conhecimentos durante todo o meu estágio.

Índice

| | |
|--|-----------|
| PARTE A – RELATÓRIOS DE ESTÁGIO CURRICULAR..... | 7 |
| Introdução | 7 |
| Abreviaturas..... | 8 |
| Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária..... | 9 |
| A Farmácia Central | 9 |
| Análise Swot..... | 10 |
| Pontos Fortes | 10 |
| Pontos Fracos..... | 12 |
| Oportunidades..... | 13 |
| Ameaças | 14 |
| Casos Práticos | 15 |
| Relatório de Estágio Curricular em Indústria Farmacêutica..... | 17 |
| A empresa Exigo Consultores..... | 17 |
| Análise Swot..... | 18 |
| Pontos Fortes | 18 |
| Pontos Fracos..... | 19 |
| Oportunidades..... | 19 |
| Ameaças | 20 |
| Considerações Finais | 21 |
| Bibliografia..... | 22 |
| | |
| PARTE B – MICRORNAS NO SANGUE COMO BIOMARCADORES DA DEPRESSÃO MAJOR: DIAGNÓSTICO E AVALIAÇÃO DE TRATAMENTO..... | 23 |
| Resumo | 23 |
| Palavras-Chave..... | 23 |
| Abstract | 24 |
| Key-words..... | 24 |
| Abreviaturas..... | 25 |
| 1. MicroRNA: caracterização e aplicação biomédica..... | 26 |
| 1.1. MicroRNA: Enquadramento histórico e Definição..... | 26 |
| 1.2. MicroRNA: biogénese | 26 |
| 1.3. MicroRNA: Mecanismos de ação na regulação de mRNAs..... | 28 |
| 1.4. MicroRNA: Aplicação biomédica | 28 |
| 2. Depressão: enquadramento da doença | 30 |
| 2.1. Patologia da Depressão | 30 |
| 2.2. Diagnóstico: sistemas de critérios..... | 31 |
| 2.3. Tratamento: farmacológico e não farmacológico | 32 |
| 2.4. Impacto socioeconómico..... | 34 |

| | |
|---|-----------|
| 3. MicroRNAs na Depressão..... | 36 |
| 3.1. Principais MicroRNAs na Depressão | 36 |
| 3.2. MicroRNAs no sangue como biomarcadores no diagnóstico da depressão | 37 |
| 3.3. MicroRNAs no sangue como biomarcadores na avaliação de tratamento da depressão | 39 |
| 4. Perspetivas futuras..... | 42 |
| Bibliografia..... | 43 |

PARTE A – RELATÓRIOS DE ESTÁGIO CURRICULAR

Introdução

O farmacêutico é um profissional de saúde especializado no medicamento, tendo uma função de destaque em todas as fases do circuito do medicamento. As atividades mais visíveis são o serviço em farmácia comunitária e farmácia hospitalar. O farmacêutico tem a responsabilidade de garantir a qualidade e segurança dos medicamentos, passando as suas atividades também pelas análises clínicas, assuntos regulamentares, farmacovigilância e produção de medicamentos.

A função do farmacêutico na comunidade é cada vez mais reconhecido, uma vez que é o profissional de saúde com o contacto primário com o doente. A formação técnico-científica é também parte da razão desse reconhecimento crescente. No nº2 do artigo 44º da Diretiva 2013/55/UE, do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de Novembro de 2013, indica que “O título de formação de farmacêutico sanciona uma formação de, pelo menos, (...) 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.”. Esta obrigatoriedade de estágio em farmácia comunitária permite um contacto mais próximo dos doentes e uma aprendizagem em contexto de trabalho. A Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra permite ainda a realização de um estágio curricular complementar em Indústria Farmacêutica.

Eu tive a oportunidade de realizar dois estágios curriculares: um estágio em farmácia comunitária na Farmácia Central de Rio Maior e um estágio em indústria farmacêutica na Exigo Consultores. Após a realização dos estágios, elaborei um relatório de estágio correspondente a cada um, sob a forma de análise SWOT.

A análise SWOT é uma ferramenta que permite avaliar o plano estratégico de uma empresa, segundo quatro parâmetros: *Strengths* (pontos fortes), *Weaknesses* (pontos fracos), *Opportunities* (oportunidades) e *Threats* (ameaças). Estes quatro parâmetros são divididos em dois níveis: interno (pontos fortes e pontos fracos) e externo (oportunidades e ameaças), sendo a análise interna respeitante ao plano estratégico e a análise externa do meio envolvente à empresa. Embora inicialmente fosse uma ferramenta de análise empresarial, este tipo de análise pode ser aplicada em diversos contextos, uma vez que é uma ferramenta simples e funcional.

Abreviaturas

DCI – Designação Comum Internacional

EMA – *European Medicines Agency* – Agência Europeia do Medicamento

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

ISPOR – *International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research* – Sociedade Internacional de Farmacoeconomia e Outcomes Research

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

SiNATS – Sistema Nacional de Avaliação de Tecnologias da Saúde

SWOT – *Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats* – Pontos Fortes, Pontos Fracos, Oportunidades, Ameaças

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária

A Farmácia Central

A Farmácia Central, sob direção do Dr. José Luís Felicidade, localiza-se na Rua Mariano de Carvalho, 83, na cidade de Rio Maior e encontra-se aberta ao público todos os dias das 8h30 às 20h00.

A equipa é constituída por três farmacêuticos – Dr. José Luís Felicidade, Dr. André Duarte e Dra. Daniela Peres – dois técnicos de farmácia – Ricardo Silva e Rui Pinto – dois ajudantes de técnico de farmácia – João Costa e Pedro Oliveira – o responsável pela receção dos medicamentos – Nuno Guilherme – o responsável pelas entregas ao domicílio e organização de receituário – Dionildo Pereira – e a responsável pelas limpezas – Maria João.

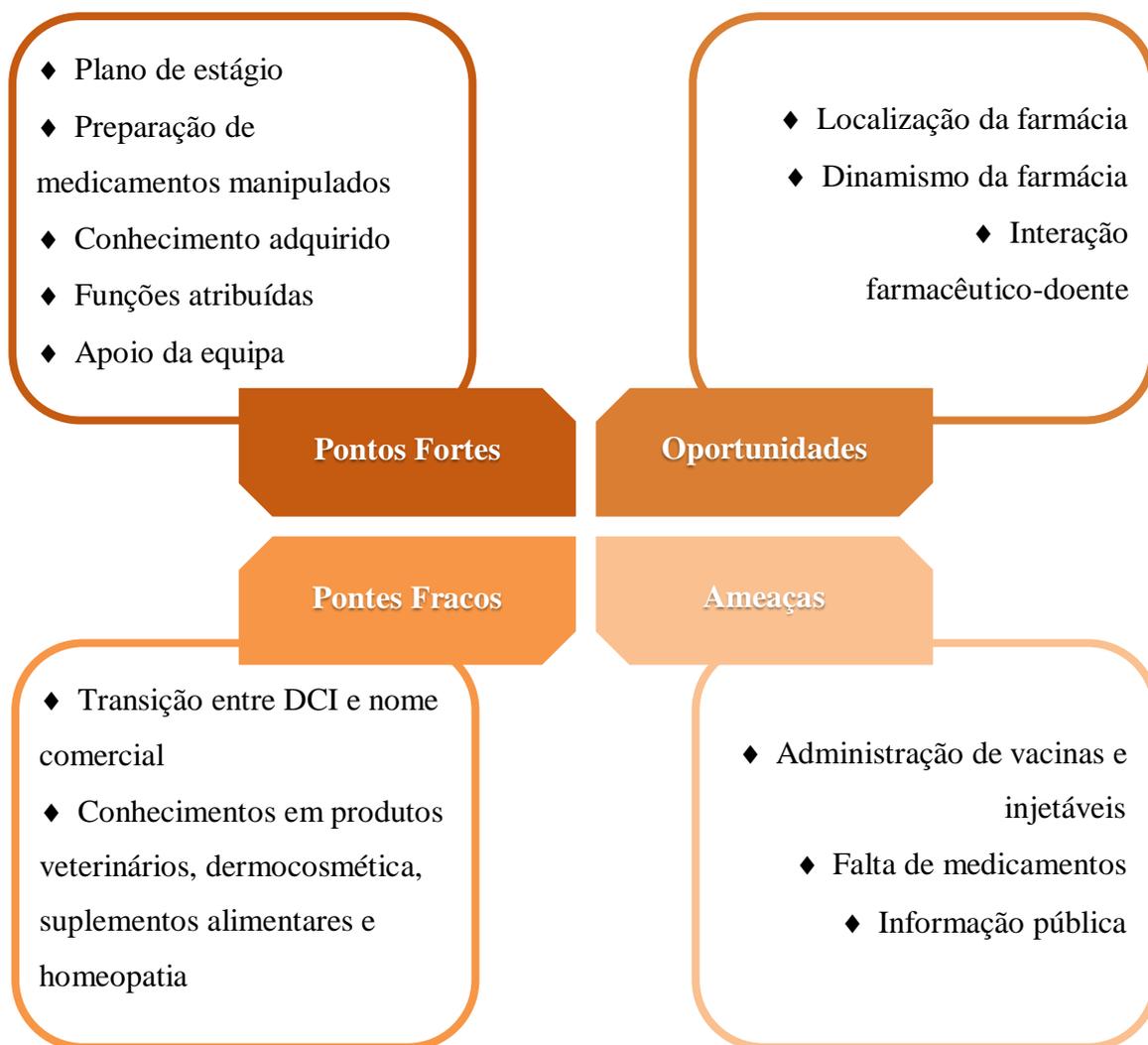
Os serviços prestados pela Farmácia Central passam pela dispensa de medicamentos sujeitos a receita médica; venda de suplementos alimentares, medicamentos não sujeitos a receita médica, produtos de dermocosmética, produtos homeopáticos e outros produtos de saúde e profilaxia; avaliação de parâmetros bioquímicos (Colesterol total, Triglicérides, Glicémia, Ácido Úrico); medição de pressão arterial; administração de injeções e vacinas; preparação de medicamentos manipulados; entrega ao domicílio de medicamentos. A farmácia também apresenta serviço de recolha de embalagens vazias ou medicamentos com prazo de validade, em colaboração com a VALORMED, e recolha de doações de embalagens de comida para animais para a associação “Animais de Rio Maior”.

O estágio decorreu no período de 10 de janeiro a 27 de abril de 2018. Com o apoio de toda a equipa, tive a oportunidade de aprender sobre o funcionamento de uma farmácia, aplicar os conhecimentos teóricos adquiridos durante a formação académica e adquirir outros conhecimentos necessário à prática de farmácia comunitária.

O plano de estágio na Farmácia Central incluía o desempenho das seguintes tarefas:

- ◆ Processamento de encomendas, devoluções e quebras;
- ◆ Gestão de *stock* de medicamentos;
- ◆ Armazenamento de medicamentos;
- ◆ Preparação de medicamentos manipulados;
- ◆ Realização de análises de parâmetros bioquímicos e fisiológicos;
- ◆ Conferência do receituário;
- ◆ Atendimento ao público.

Análise Swot



Pontos Fortes

Plano de estágio

O plano de estágio abrangeu todas as tarefas realizadas numa farmácia, o que me permitiu ter uma noção mais elucidada do funcionamento de uma farmácia, e de como todas as funções são importantes para o seu funcionamento.

O contacto com o público, tanto no atendimento como na realização das análises dos parâmetros bioquímicos e fisiológicos, permite colocar em prática todo o conhecimento adquirido nos quatro anos de aprendizagem na faculdade, embora com as suas necessárias adaptações para a realidade de uma farmácia. O atendimento ao público no estágio foi imediato, uma vez que já tinha realizado um estágio de verão naquela mesma farmácia. No início, um atendimento um pouco receoso, mas sempre com o apoio da equipa técnica, que acompanhavam

o meu atendimento, confirmavam as minhas ações e ajudavam em qualquer dúvida que surgia durante o atendimento.

Embora o atendimento ao público seja muito importante para o funcionamento de uma farmácia, também o trabalho *back-office* é essencial para esse mesmo bom funcionamento. A gestão de *stock* e o processamento de encomendas, devoluções e quebras permite perceber os medicamentos que existem na farmácia para dispensa. A regra na Farmácia Central é ter diversidade que satisfaça todos os clientes, pelo que o armazenamento tem que ser organizado, e o *stock* de medicamentos controlado diariamente. A realização de todas as tarefas durante todo o período de estágio fez entender de que forma todas as tarefas estão interconectadas entre si, e como é importante cada uma delas ser bem realizada para que a farmácia esteja em pleno funcionamento.

Preparação de medicamentos manipulados

Atualmente existe grande variedade de medicamentos e formas farmacêuticas, mas existem alguns medicamentos ou algumas dosagens que não são economicamente rentáveis à indústria farmacêutica. A Farmácia Central dispõe de uma divisão, “o laboratório”, onde são preparados medicamentos manipulados. Os medicamentos manipulados podem ser fórmulas magistrais, se “preparados segundo uma receita médica que especifica o doente a quem o medicamento se destina”, ou preparados officinais, se preparados “segundo indicações compendiais, de uma Farmacopeia ou Formulário”.¹ Os medicamentos manipulados são preparados através de medicamentos já comercializados, em diferente forma farmacêutica ou dosagem desejada, ou através de matérias-primas encomendadas para o efeito.

Conhecimento adquirido

A transposição de conhecimento teórico para a prática de farmácia nem sempre é fácil, e a necessidade de responder a questões do utente instantaneamente requer a consolidação dos conhecimentos sobre os fármacos e possíveis efeitos adversos e interações. Durante todo o meu estágio, os conhecimentos académicos foram consolidados, e informação adicional foi aprendida.

O conhecimento adquirido não se restringiu ao conhecimento técnico, como também à relação farmacêutico-doente, onde a abordagem é diferente da farmacêutico-profissional de saúde. Saber fazer as perguntas certas e ouvir o doente é necessário para um atendimento de excelência, o que pode fazer com que o doente se fidelize à farmácia.

Funções atribuídas

A Farmácia Central tem um grande movimento de pessoas e, conseqüentemente, de dispensa de medicamentos. O Sifarma 2000® permite a confirmação dos produtos selecionados antes do final da dispensa e venda dos medicamentos. Esta funcionalidade permite reduzir os erros que por vezes podem acontecer aquando a dispensa. Ainda assim, na Farmácia Central existe um controlo diário dos medicamentos psicotrópicos, de forma a garantir que não existe nenhuma falha com este grupo de medicamentos, que já têm um controlo mensal por parte do INFARMED. Desde o início do estágio que estive responsável por fazer a verificação dos psicotrópicos diariamente, sendo posteriormente confirmada pelo diretor técnico.

Tal como suprarreferido, o movimento de medicamentos na Farmácia Central é grande, pelo que a reposição de *stock* de medicamentos é feita pelo menos duas vezes por dia. A encomenda de medicamentos do meio-dia estava à minha responsabilidade. Esta encomenda servia para repor o *stock* de todos os medicamentos que tinham sido vendidos na parte da manhã na farmácia.

Também o controlo semanal dos termómetros dos frigoríficos ficou como minha responsabilidade durante o estágio.

Apoio da equipa

Durante todo o estágio contei com o apoio da equipa da farmácia, que faziam questão de me ensinar e apoiar na minha aprendizagem. Sempre que alguma questão surgia, ajudavam-me a superar ou ensinavam como fazer certa tarefa.

Pontos Fracos

Transição entre DCI e nome comercial

A maior dificuldade que encontrei no estágio foi associar a designação comum internacional (DCI) com o nome comercial do medicamento. Embora as receitas eletrónicas apresentem os medicamentos por DCI, e muitas pessoas já utilizem os medicamentos genéricos ao invés dos medicamentos originais, por vezes, ao entregarem a receita eletrónica apenas pediam pelo nome comercial. Rio Maior é uma cidade pequena, e o nível de literacia não é muito alto, pelo que, por vezes, a dicção das pessoas tornava difícil de entender o nome comercial, dificultando ainda mais entender qual o DCI que lhe correspondia.

Conhecimentos em produtos veterinários, dermocosmética, suplementos alimentares e homeopatia

Os conhecimentos adquiridos na faculdade sobre produtos veterinários, dermocosmética, suplementos alimentares e homeopatia são escassos para o conhecimento necessário numa farmácia. Embora tenha aprendido muito durante o meu estágio na farmácia, sinto que os meus conhecimentos nas áreas ainda não são os necessários para dar uma resposta concisa aquando uma opinião farmacêutica necessária.

Oportunidades

Localização da farmácia

A Farmácia Central encontra-se localizada num largo, perto das escolas, do Complexo Desportivo de Rio Maior e do Centro de Saúde de Rio Maior. Esta localização permite que todos os escalões venham à farmácia, dando a oportunidade de contactar e ter experiência com todos eles. As crianças, acompanhadas pelos pais, vêm devido à proximidade da escola e do Centro de Saúde. No Complexo Desportivo de Rio Maior existe durante todo o ano estágios de grupos federados, nacionais e internacionais, que permite o atendimento a adultos de todas as idades. A proximidade ao Centro de Saúde permite principalmente o atendimento de pessoas idosas, que por se encontrar perto vêm aviar as suas receitas à Farmácia Central.

Embora seja um aspeto lateral, o estacionamento disponível em torno da farmácia também permite uma maior afluência de pessoas na farmácia.

Dinamismo da farmácia

Como referido ao longo do relatório, a Farmácia apresenta muito movimento, sendo normal que pelo menos cinco pessoas estejam à espera para serem atendidas. O trabalho na farmácia era sempre muito, e toda esta dinâmica da farmácia, aliado à boa localização e ao serviço de excelência prestado, ajudou a que tivesse contacto com diferentes pessoas, de diferentes idades, diferentes nacionalidades e diferentes problemas.

Interação farmacêutico-doente

Uma barreira muito difícil é a interação farmacêutico-doente, principalmente com pessoas mais idosas ou pessoas mais intransigentes, mas um desafio muito gratificante. Embora tenha sido mais difícil no início, uma vez que como estagiária muitas pessoas preferissem ser atendidas por um dos meus colegas, o ganho de confiança gradual permitiu que ganhasse confiança tanto dos doentes como em mim mesma.

Ameaças

Administração de vacinas e injetáveis

Um dos entraves no meu estágio foi a administração de vacinas e injetáveis. Muitas pessoas deslocam-se à farmácia para a administração destes. Embora tenha assistido e me tenha sido explicado o procedimento, a falta do curso de administração de vacinas e injeções impossibilitou-me a realização desta função. Sempre que alguém me pedia para o fazer, tinha que explicar que ainda não o podia fazer, e que teria que esperar que um dos meus colegas com o curso terminasse o seu atendimento.

Falta de medicamentos

Embora, infelizmente, a falta de *stock* nacional de certos medicamentos não seja recente, este flagelo importuna o bom funcionamento de uma farmácia assim como a saúde da população.

Informação pública

Durante o meu estágio muitas foram as vezes que tive de explicar a diferença entre medicamentos originais e medicamentos genéricos. Esta falta de informação leva por vezes a que as pessoas gastem mais dinheiro em medicamentos desnecessariamente.

Também durante o período de estágio, foi mandado recolher pelo INFARMED todos os medicamentos que contivessem na sua constituição paracetamol de libertação prolongada. Devido à falta de maiores explicações, e devido ao seu alerta ter passado nos meios de comunicação também sem uma informação mais completa, durante pelo menos uma semana tive que explicar a diferença entre o paracetamol “normal” e o de libertação prolongada. Por vezes os doentes não queriam o paracetamol como parte da terapêutica porque tinha “passado na televisão que fazia mal”, ou queriam o paracetamol de libertação prolongada porque “já tomavam há muito tempo e queriam continuar com os mesmos medicamentos”.

Esta falta de informação pública torna o papel do farmacêutico mais complicado, uma vez que por vezes as pessoas acreditam mais no que é dito na comunicação social do que nos profissionais de saúde. Esta dificuldade, no entanto, torna o papel do farmacêutico muito mais importante, contribuindo para a saúde comunitária como contacto primário com a população.

Casos Práticos

No decorrer do estágio pude ter uma noção da realidade de uma farmácia comunitária e a ajuda que uma farmácia pode ter na comunidade a quem serve.

1. Infecção Urinária

A Sra. X, 30 anos, deslocou-se à farmácia com uma receita de fosfomicina 3000mg, 2 saquetas. Após questionar se já tomou este medicamento, a senhora confidência que no ano anterior teve duas infecções urinárias. Questionei se toma algo para prevenir, visto que apresenta recorrência de infecção urinária, e se alertou o médico para esta recorrência. A doente diz que sim, mas que como está num emprego que exige que esteja sentada durante muito tempo, que por vezes bebe pouca água e que urina pouco, o médico considera que as suas ações possam estar a contribuir para a recorrência, uma vez que a intensidade das infecções não pioraram. Alertei que as infecções urinárias podem ser graves, caso a infecção suba para o trato urinário superior e que é necessário sempre beber muita água, sentir que ao urinar esvaziou totalmente a bexiga, fazer uma higiene íntima cuidada utilizando sabões com pH próprio para aquela região corporal, utilizar roupa interior de algodão para permitir a arejamento, e ter atenção que a limpeza da região deve ser sempre feita da frente para trás. Indiquei também que existe umas cápsulas de arando vermelho, Roter Cystiberry®, que são indicadas para prevenir os infecções urinárias, ao acidificarem a urina e prevenir a aderência das bactérias à parede do trato urinário. A senhora anuiu com a minha sugestão e levou as cápsulas para experimentar após tratamento.

2. Onicomicose

Sr. Z, 79 anos, dirigiu-se à farmácia com a sua esposa para aviar uma receita médica. Durante o atendimento, e durante uma conversa de circunstância, a esposa do Sr. Z pede-me para verificar a unha do seu esposo. Enquanto analiso a unha, a esposa indica-me que o Sr. Z já fez o tratamento com o produto Dr. Scholl antifúngico mas que melhorou. Questionei como realiza o tratamento, ao que ele indicou que não colocava todos os dias, porque se esquecia, e que acabou por deixar de colocar. Perguntei se costumava limar a unha, ao que ele respondeu que não. Explico que para que o tratamento resulte com aquele dispositivo médico, é necessário colocar o líquido todos os dias e limar a unha, uma vez por semana, para que a parte com a infecção seja eliminada e que o líquido penetre na parte interior da unha ainda infetada. Devido à sua idade avançada, questionou-me se não existia nenhum que não seja necessário limar.

Indiquei-lhe o Excilor®, que existe em caneta e em verniz, e que não é necessário limar, mas que continua a ser necessário aplicar todos os dias para que faça o efeito necessário. O Sr. Z indicou que pretendia levar o verniz antifúngico, e a esposa do Sr. Z garantiu que o iria recordar todos os dias.

3.Utilização de inaladores de pó seco

Sra. A, 70 anos, vai à farmácia aviar uma receita médica habitual, levando uma outra com um Symbicort Turbohaler® (budesonida / fumarato de formoterol di-hidratado) 320 microgramas / 9 microgramas / inalação, indicando que essa tem um novo medicamento que o médico acabava de receitar. Após trazer todos os medicamentos, perguntei-lhe se o médico lhe tinha explicado como utilizar o inalador, ao qual ela que respondeu negativamente. Fui buscar o modelo que existe na farmácia para explicar como proceder à sua utilização. Expliquei: primeiro desenrosca a tampa, ouvindo um som ao fazê-lo; segura no inalador em posição vertical, com a base rotativa vermelha na parte inferior, e roda a base até ouvir um clique (isto indica que já está carregada a dose); expirar total e suavemente, com o inalador ainda longe da boca; colocar o inalador na boca, com os lábios bem encostados ao bucal e inspirar forte e profundamente; retira o inalador da boca e expira lentamente; coloca a tampa e guarda até à próxima utilização. Alertei que depois de cada utilização deve bochechar a boca com água para retirar algum resíduo que possa ter ficado retido, de forma a evitar o aparecimento de aftas. Depois pedi-lhe para repetir o processo. Informe também que uma forma de saber se tinha tomada a dose era que ficaria com um sabor estranho depois da toma.

Relatório de Estágio Curricular em Indústria Farmacêutica

A empresa Exigo Consultores

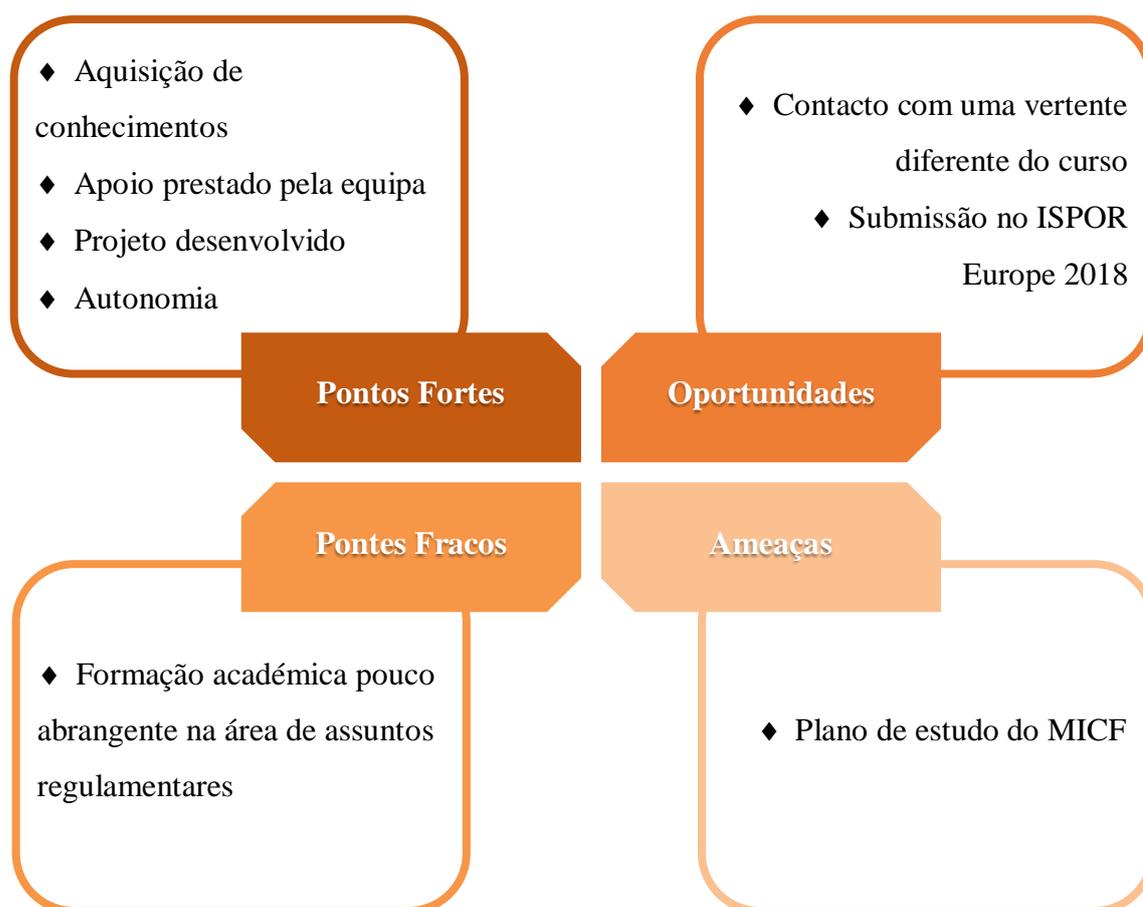
A Exigo Consultores, fundada em 2001, é uma empresa de consultoria em assuntos regulamentares e economia na saúde. Atualmente constituída por uma equipa multidisciplinar de 20 colaboradores, e com base operacional em Lisboa, a Exigo Consultores desenvolve 40% da sua atividade para países na Europa (Espanha, França, Finlândia, Holanda, Suíça), Américas (Brasil, EUA), Ásia (Coreia do Sul) e Médio Oriente (Arábia Saudita, Bahrein). Os serviços prestados pela empresa são no âmbito de assuntos regulamentares, acesso ao mercado farmacêutico, epidemiologia, avaliação de resultados em saúde e economia da saúde.

O estágio decorreu entre 2 de maio e 31 de julho de 2018. O plano de estágio centrou-se na parte farmacoeconómica do medicamento, nomeadamente, uma revisão sistemática dos três anos do funcionamento do Sistema Nacional de Avaliação de Tecnologias da Saúde (SiNATS).

O SiNATS foi criado a 1 de junho de 2015, através do Decreto-Lei nº97/2015 ², sendo a sua redação atual o Decreto-Lei nº115/2017 ³. A gestão do SiNATS é da responsabilidade do INFARMED, existindo uma comissão, designada de Comissão de Avaliação das Tecnologias da Saúde, constituída por peritos da saúde, a quem cabe dar um parecer na avaliação da tecnologia da saúde. Um dos objetivos do SiNATS é “maximizar os ganhos em saúde e a qualidade de vida dos cidadãos”, sendo necessário também, portanto, uma avaliação da implementação deste sistema de avaliação.

O trabalho realizado durante o estágio baseou-se nos pedidos de financiamento disponibilizados pelo INFARMED, sendo criado, numa primeira etapa, uma base de dados com todos os medicamentos e dispositivos médicos aí referidos. Através dos relatórios de avaliação disponibilizados pelo INFARMED⁴, a base de dados foi construída e a informação sistematizada, sendo também completada com informação disponibilizada pela Agência Europeia do Medicamento⁵. Toda a informação sistematizada foi dividida entre pré e pós SiNATS e, no final, analisada, de forma a entender qual o impacto do SiNATS na avaliação das tecnologias da saúde.

Análise Swot



Pontos Fortes

Aquisição de conhecimentos

Um dos motivos por querer fazer estágio na Exigo Consultores foi o prestígio que a empresa tem na área de economia na saúde, e querer aprender com os melhores no ramo. As bases que tinha em farmacoeconomia não eram muitas, apenas meio semestre numa unidade curricular que frequentei quando o programa de ERASMUS. Durante todo o estágio na Exigo Consultores, e em cada etapa do projeto, foi uma aquisição de conhecimento na área contínua, aprendendo muito como funciona o processo de pedido de financiamento, assim como o SiNATS.

Apoio prestado pela equipa

Durante todo esse processo de aprendizagem, os meus coorientadores faziam questão em cada uma das etapas de me explicar matérias relacionadas com avaliação farmacoterapêutica e farmacoeconómica, assim como me indicarem artigos com os quais poderia consolidar o

transmitido. Como não tenho experiência na área, prestaram sempre auxílio nas dúvidas que iam aparecendo no decorrer do trabalho.

Projeto desenvolvido

No primeiro dia de estágio foi-me proposto o desafio de desenvolver um artigo de revisão sobre os três anos do SiNATS. O projeto permitiu-me não só adquirir conhecimentos na área de farmacoeconomia, como suprarreferido, mas também conhecer melhor o que é o SiNATS e qual o seu impacto na avaliação de tecnologias de saúde, melhorar os meus conhecimentos em Excel, assim como em Inglês, nomeadamente termos mais técnicos e próprios da área.

Autonomia

O projeto foi desde início dividido em etapas, de forma que a aprendizagem fosse facilitada. No início de cada etapa, foi-me explicado os conceitos e de que forma deveria realizar essa mesma etapa. Essa autonomia no desenvolvimento do projeto ajudou a que entendesse os conceitos e a aplicá-los na sistematização de informação.

Pontos Fracos

Formação académica pouco abrangente na área de assuntos regulamentares

A falta de formação académica específica na área de farmacoeconomia dificultou e atrasou o desenvolvimento do trabalho. As dúvidas suscitadas prendiam-se com a sensibilidade de entendimento do que se encontrava escrito no relatório de avaliação do medicamento referente. Essa sensibilidade é adquirida com a prática de trabalho na área. Os coorientadores auxiliaram no possível, mas não esquecendo que continuam no seu emprego e que também eles têm projetos para apresentar a clientes dentro de prazos.

Oportunidades

Contacto com uma vertente diferente do curso

O estágio curricular em farmácia comunitária faz parte obrigatoriamente do plano de estudo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF). A possibilidade de fazermos estágio numa outra área, permite termos contacto com as outras vertentes curriculares, assim como conhecer melhor as saídas profissionais que o curso permite. O estágio na Exigo Consultores, além do conhecimento, ensinou como funciona uma empresa de consultoria, as outras áreas de trabalho da empresa e o dinamismo de uma equipa multidisciplinar.

Participação no ISPOR Europe 2018

No decorrer do estágio, surgiu a oportunidade de apresentar o trabalho desenvolvido no ISPOR Europe 2018 ⁶, juntamente com a empresa. Foi-me proposto a preparação de dois resumos de trabalhos de investigação baseados no projeto que estava a realizar como plano de estágio, para submissão no congresso. Devido à falta de prática de escrever resumos e o limite de palavras imposto para possível submissão, os textos foram melhorados pelos meus colegas, sendo então submetidos para apresentação na ISPOR Europe 2018. Uma semana após terminar o estágio na Exigo Consultores, foi-me comunicado que ambos os resumos tinham sido aceites para apresentação em *poster*.

Ameaças

Plano de estudo do MICF

A falta de bases em assuntos regulamentares tornou todo o estágio mais complicado. A estrutura de todo o plano de estudos do MICF está muito direcionado para a farmácia comunitária, o que nos torna menos competentes para certas funções, devido à falta de conhecimentos necessários.

Considerações Finais

O estágio curricular é o momento final de um percurso académico, onde os conhecimentos académicos, teóricos e práticos, são aplicados em contexto profissional. Além de ser um período de transição entre a formação académica e o exercício profissional, o estágio curricular permite também uma melhoria da capacidade de comunicação interpessoal e um aumento de confiança e autonomia nos conhecimentos adquiridos durante o percurso académico.

A farmácia comunitária é onde muitas pessoas têm contacto com um profissional de saúde, pelo que o farmacêutico comunitário tem uma responsabilidade acrescida de garantir a promoção e educação para a saúde, transmitindo a informação de forma concisa e esclarecedora em qualquer aconselhamento farmacêutico prestado. O estágio curricular na Farmácia Central fez-me entender o quão importante o farmacêutico comunitário é na comunidade inserida. O estágio curricular no final do curso é uma mais-valia para os estudantes finalistas, onde podem conjugar o conhecimento adquirido na faculdade com as necessidades reais do ambiente profissional.

A indústria farmacêutica tem crescido nos últimos anos, e a quantidade de novos medicamentos é também crescente. A necessidade de avaliar e comparar medicamentos de grupos terapêuticos iguais, assim como avaliar o impacto económico de um medicamento, torna empresas como a Exigo Consultores necessárias para melhorar o Sistema Nacional de Saúde. O estágio curricular na Exigo Consultores permitiu-me construir uma melhor ideia de todas as saídas profissionais do curso MICEF, e como o papel do farmacêutico pode ser ainda mais abrangente.

Bibliografia

1. INFARMED, I.P. – **Medicamentos Manipulados** [Em linha] [Consultado 6 agosto 2018] Disponível em <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/inspecao/inspecao-medicamentos/medicamentos-manipulados>
2. MINISTÉRIO DA SAÚDE – **Decreto-Lei nº 97/2015** [Em linha] [Consultado 4 agosto 2018] Disponível em https://dre.pt/home/-/dre/67356991/details/maximized?p_auth=2jnk7Nkz
3. MINISTÉRIO DA SAÚDE – **Decreto-Lei nº 115/2017** [Em linha] [Consultado 4 agosto 2018] Disponível em <https://dre.pt/home/-/dre/108113700/details/maximized>
4. INFARMED, I.P. – **Relatórios de Avaliação** [Em linha] [Consultado 5 agosto 2018] Disponível em <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/relatorios-de-avaliacao>
5. AGÊNCIA EUROPEIA DO MEDICAMENTO – **Human medicines** [Em linha] [Consultado 5 agosto 2018] Disponível em http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/landing/epar_search.jsp&mid=WC0b01ac058001d124
6. ISPOR – **ISPOR Europe 2018** [Em linha] [Consultado 5 agosto 2018] Disponível em <https://www.ispor.org/conferences-education/conferences/upcoming-conferences/europe-2018>

PARTE B – MICRORNAs NO SANGUE COMO BIOMARCADORES DA DEPRESSÃO *MAJOR*: DIAGNÓSTICO E AVALIAÇÃO DE TRATAMENTO

Resumo

Os microRNAs (miRNAs) são pequenas moléculas de RNA não-codificantes, de cadeia simples, constituídos por 18-25 nucleótidos e estão envolvidos na regulação pós-transcricional dos RNA mensageiros (mRNA). Desde a sua descoberta, os miRNAs têm sido implicados na etiologia e/ou desenvolvimento de diversas patologias, nomeadamente na depressão *major*. A depressão *major* é uma doença debilitante, com etiologia ainda não totalmente compreendida, e com prevalência mundial estimada em cerca de 4.4%, em 2015. Diversos fatores (genéticos, biológicos, psicossociais) podem desencadear reações depressivas. Os sintomas desta doença são bastante heterogêneos, não existindo ainda um biomarcador biológico na realização do diagnóstico. A terapêutica da depressão *major* é realizada principalmente com medicamentos antidepressivos, embora se estime que um terço dos doentes sejam resistentes à ação de certos medicamentos antidepressivos. A presença de miRNAs no sangue, e a alteração do perfil de expressão destes em caso de patologia, levou à procura de quais os miRNAs envolvidos na depressão *major*. Os miRNAs no sangue envolvidos na depressão poderão servir como biomarcadores da depressão *major*, assim como auxiliarem na avaliação do tratamento a adotar. Os miRNAs que apresentam maiores evidências de envolvimento na depressão *major*, e que poderão ser utilizados como biomarcadores no sangue no diagnóstico, são os miR-24-3p, miR-132, miR-182 e miR-425-3p. Os miRNAs que apresentam maiores evidências de alteração em caso de depressão *major* e após tratamento com medicamento antidepressivo são miR-24-3p, miR-132, miR-135a, miR-335, miR-425-3p, miR-652, miR-1202.

Palavras-Chave

MicroRNA, miRNA, Depressão *Major*, biomarcadores, diagnóstico, avaliação de tratamento

Abstract

MicroRNAs (miRNAs) are small, single stranded, non-coding RNA molecules, with 18-25 nucleotides, that are involved in post-transcriptional of messenger RNA (mRNA). Since its discovery, miRNAs have been implied in the etiology and/or development of several pathologies, such as Major Depressive Disorder (MDD). MDD is a debilitating mental disorder, which etiology hasn't understood yet, with an estimated world prevalence of 4.4%, in 2015. Several factors (genetic, biologic, psychosocial) may trigger depressive symptoms. The symptoms of MDD are quite heterogenic and there isn't a biologic biomarker of diagnosis yet. The therapeutic of MDD is majorly done with antidepressant treatment, although it is estimated that one third of patients may be resistant to the action of some antidepressants. The presence of miRNAs in blood, and the alteration of its expression profile in case of pathology, led to the search of which miRNAs are involved in MDD. Those blood miRNAs involved in MDD may serve as biomarkers of diagnostic of MDD, as well as biomarkers in the evaluation of adopted treatment. The miRNAs that show greatest evidence of its imply on MDD, which can be used as blood biomarkers in MDD diagnostic, are miR-24-3p, miR-132, miR-182 e miR-425-3p. The miRNAs that show greatest evidence of alteration of the expression profile after antidepressant treatment are miR-24-3p, miR-132, miR-135a, miR-335, miR-425-3p, miR-652, miR-1202.

Key-words

MicroRNA, miRNA, Major Depressive Disorder, MDD, biomarkers, diagnostic, evaluation of treatment

Abreviaturas

3'-UTR – 3' *Untranslated region* – 3' Região não-codificante

5'-UTR – 5' *Untranslated region* – 5' Região não-codificante

Ago2 – *Protein argonaute-2* – Proteína argonaute-2

BDNF – *Brain-derived neurotrophic factor* – Fator neurotrófico derivado do cérebro

DSM-IV – *Diagnostic and Statistical Manual IV* – Manual de Diagnóstico e Estatística IV

ICD-10 – *International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision* – 10^a revisão da Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde

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

MAPK/Wnt – *Mitogen-Activated Protein Kinase/ Wnt* – Proteína quinase ativada por mitogenose/ *Wnt*

miRNA – microRNA

mRNA – *messenger RNA* – RNA mensageiro

NET – *Norepinephrine transporter* – Transportador de noroepinefrina

PACT – *Protein kinase RNA activator* – Ativador de RNA da proteína cinase

qRT-PCR – *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction Quantitative Real Time* – Reação em cadeia da polimerase em tempo real

pre-miRNA – precursor do microRNA

pri-miRNA – MicroRNA primário

Ran-GTP – *GTP-binding nuclear protein Ran*

RISC – *RNA-Induced Silencing Complex*

RNA – *Ribonucleic Acid* – Ácido Ribonucleico

RNase – *Ribonuclease*

SERT – *Serotonin Transporter* – Transportador de Seretonina

siRNA – *Silencing RNA* – RNA silenciador

TRBP – *the human immunodeficiency virus transactivating response RNA binding protein*

1. MicroRNA: caracterização e aplicação biomédica

1.1. MicroRNA: Enquadramento histórico e Definição

Em Dezembro de 1993 foram publicados dois estudos independentes na revista “Cell” a reportar a existência de um mecanismo de regulação celular, desconhecido até essa altura, mediado por pequenos RNAs não-codificantes de proteínas. As duas investigações dos laboratórios de Victor Ambros e de Gary Ruvkun, em conjunto, permitiram a identificação do *lin-4* - o primeiro de um numeroso grupo de pequenos RNAs reguladores, agora designados como microRNA (miRNA) – descoberto no nematóide *Caenorhabditis elegans*.¹⁻³ Desde então, a investigação do potencial destes pequenos RNAs reguladores têm crescido exponencialmente, com a descoberta da sua ligação às mais variadas patologias.⁴

Os miRNAs são moléculas de RNA não-codificantes de cadeia simples, constituídos por cerca de 18-25 nucleótidos. No genoma, os seus precursores são regiões altamente conservadas evolucionariamente, estando codificadas nas regiões intergénicas e nos intrões dos genes codificantes de proteínas, anteriormente designadas como “lixo genético”, uma vez não se conhecia a sua função. Estas moléculas são capazes de regular a expressão e função dos RNA mensageiros (mRNA), regulando a expressão genética pós-transcrição. Embora inicialmente se considerassem moléculas intracelulares, foi detetada a sua presença também em fluidos humanos (plasma, urina, saliva) – designados de miRNAs circulantes – abrindo as portas para a sua utilização como biomarcadores de monitorização de patologias.^{1,2,5-7}

1.2. MicroRNA: biogénese

A biogénese dos miRNAs é um dos critérios para diferenciar estes de outras pequenas moléculas de RNA não-codificantes, como é exemplo os siRNAs.^{8,9} A biogénese dos miRNAs humanos apresenta duas fases principais: a fase nuclear e a fase citoplasmática, que se encontram esquematizadas na figura 1.

Na fase nuclear, o miRNA codificado no genoma é transcrito pela RNA polimerase II, formando o microRNA primário (pri-miRNA). Este apresenta-se como uma longa molécula que apresenta uma estrutura em forma de gancho, com o topo 5'-guanosina e uma extremidade 3' poliadenilada. O pri-miRNA é depois processado por um complexo multiproteico designado de Microprocessor – constituído pelas enzimas Drosha^a e Pasha^b – formando-se o precursor

^a Drosha – enzima nuclear RNase III de ~160-kDa. É altamente conservada em mamíferos.² Como subunidade do complexo proteico Microprocessor, catalisa os passos iniciais do processamento de miRNA.

^b Pasha – também conhecido como human DGCR8 (DiGeorge syndrome critical region gene 8), é uma proteína de ligação a RNA de dupla-cadeia.² Pode apresentar múltiplas variantes transcricionais devido ao splicing alternativo. No complexo proteico Microprocessor, funciona como a subunidade não-catalítica, facilitando o corte do RNA pelo Drosha.

microRNA (pre-miRNA). O pre-miRNA é então transportado do núcleo para o citoplasma pela exportina-5/Ran-GTP.^{1,2,5,7,9}

Na fase citoplasmática, o pre-miRNA é então clivado, por um complexo ribonucleoproteico constituído pela enzima Dicer-1^c e pelas proteínas TRBP e Ago2, formando-se um pequeno e imperfeito miRNA de dupla cadeia. Embora não esteja totalmente esclarecido a passagem de dupla cadeia para cadeia simples, o miRNA de dupla cadeia é possivelmente desenrolado por uma helicase, originando a cadeia de miRNA madura ou antisense e uma cadeia miRNA passenger ou sense, em que esta última será destruída. A cadeia de miRNA madura é então incorporada ao RISC^d, guiando o complexo até ao mRNA alvo, apresentando vários mecanismos de ação na regulação da função e expressão de mRNAs.^{1,2,7,10,11}

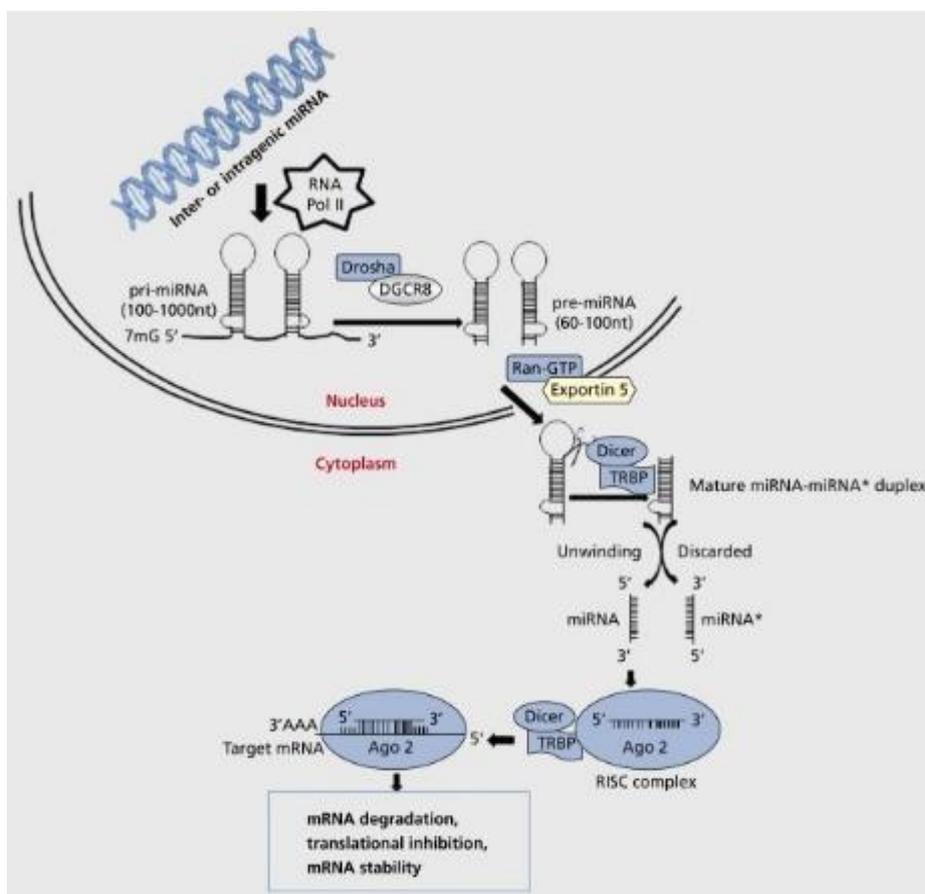


Figura 1 – Biogénese do microRNA: Esquematização das fases nuclear e citoplasmática da biogénese dos microRNAs. Adaptado de Dwivedi, Y. 2014

^c Dicer-1 – proteína multi-domínio localizada no citoplasma e/ou no retículo endoplasmático rugoso. Apresenta cinco domínios: no terminal-N o domínio de ATPase/Helicase, seguido pelo domínio DUF283 (domínio de função desconhecida) e pelo domínio PAZ (Piwi/Argonaute/Zwilli), dois domínios de RNase III nucleases (RNase IIIa e RNase IIIb) no terminal-C seguido por o domínio dsRBD (domínio de ligação de dsRNA). Componente fundamental do complexo RISC.⁷

^d RISC – Complexo múltiproteico constituído pelo Dicer-1, TRBP, Ago2 e PACT. A sua presença nas etapas finais da biogénese é importantíssima, uma vez que é este que ativa o miRNA e permite que este exerça a sua função no mRNA alvo.⁷

1.3. MicroRNA: Mecanismos de ação na regulação de mRNAs

Embora o modo de ação dos miRNAs ainda não seja totalmente compreendido, estudos recentes demonstram que um miRNA pode ter ação sobre mais que um mRNA alvo. Os miRNAs podem atuar através de diferentes mecanismos de ação, tanto no citoplasma como no núcleo, sendo que grande parte dos estudos feitos até ao momento indicam que a maioria dos miRNAs atuam através de um mecanismo de pós-transcrição, induzindo a diminuição da expressão proteica. Os miRNAs podem ligar-se diretamente a várias zonas do mRNA alvo – 3'UTR, 5'-UTR e/ou regiões codificantes – levando à degradação dos mRNA ou à inibição da tradução.

Embora os mecanismos de ação mais estudados até ao momento demonstrem a ação *downregulation* dos miRNA, recentes estudos demonstram que alguns miRNA podem ter um mecanismo de *upregulation*, isto é, atuam a favor da expressão proteica. O seu mecanismo de ação ainda não é conhecido, mas existem evidências de que a sua ação passa pela promoção da tradução e estabilidade dos mRNAs.^{6,10,11}

A biogénese dos miRNAs é regulada por mecanismos epigenéticos. Estes mecanismos consistem em processos de metilação e desacetilação. A metilação ocorre tanto nas sequências nucleotídicas dos miRNAs como nos promotores, e a desacetilação ocorre nas histonas. As alterações epigenéticas podem alterar a expressão dos miRNAs, podendo até induzir o desenvolvimento de patologias, estando por exemplo relacionadas com a ocorrência de cancro gástrico.^{6,12}

1.4. MicroRNA: Aplicação biomédica

O perfil de expressão dos miRNAs é específico de tecido ou, por vezes, específico de um tipo de célula. Adicionalmente, alguns miRNAs são específicos de fases de desenvolvimento.^{13,14} Em caso de patologia, o perfil de expressão dos miRNAs apresenta-se significativamente alterado, comparativamente com o perfil de expressão normal.¹⁵ Tal como suprarreferido, a deteção dos miRNAs em fluidos humanos levou ao estudo da possível utilização biomédica destes miRNAs circulantes. Vários estudos mostram a sua potencial aplicação no diagnóstico, prognóstico, avaliação de tratamento e, adicionalmente, como tratamento.^{1,15,16} Embora não se saiba ainda o porquê da sua presença nos fluidos humanos, reconhece-se que um miRNAs não é explícito de um tipo de tecido/célula, pelo que existe evidências de que possa resultar de um mecanismo de comunicação célula-célula.² No sangue, os miRNAs encontram-se incorporados em vesículas lipídicas (micropartículas – 50nm, exosomas – 90nm) que previnem a sua degradação ao lhes conferir maior estabilidade e resistência às ribonucleases (RNase) e às alterações de pH nos fluidos humanos.^{1,2}

A sua aplicação biomédica como biomarcador em diagnóstico é especialmente relevante em doenças nas quais os sinais aparecem numa fase mais tardia e/ou avançada da doença, ou os sintomas são transversais a várias doenças, ou em doenças onde o diagnóstico envolve a realização de técnicas invasivas e desconfortáveis para os doentes.¹ A deteção dos miRNAs no sangue (soro) pode ser feita, por exemplo, através do PCR em tempo real (qRT-PCR).

2. Depressão: enquadramento da doença

2.1. Patologia da Depressão

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, a Depressão *Major* caracteriza-se por: “tristeza, perda de interesse ou prazer, sentimento de culpa ou baixa autoestima, distúrbio no sono ou apetite, sentir cansaço constante, e diminuição na concentração”.¹⁷

Os principais sintomas da depressão são: baixa autoestima, perturbações no sono, cansaço persistente, anedonia, falta de concentração, indecisão, variações no apetite e/ou peso não causadas pela alteração de alimentação/esforço físico, alteração de movimentos, sentimento de inutilidade, pensamentos suicidas.¹⁸

Devido à heterogeneidade dos sintomas da depressão *major*, a etiologia desta ainda não é totalmente compreendida, existindo um vasto leque de fatores que contribuem para o desenvolvimento da mesma.^{19,20} Esses fatores podem ser de natureza hereditária (maior predisposição para vir a desenvolver reações depressivas a eventos adversos²¹), biológica (alterações dos níveis de neurotransmissores e função neuroendócrina com consequentes alterações fisiológicas no cérebro¹⁹⁻²¹), e/ou psicossociais (situações quotidianas adversas, morte, doença prolongada). Também alguns medicamentos podem provocar, ou mimetizar, os sintomas da depressão *major*, pertencendo estes, principalmente, às classes medicamentosas: antimicrobiana, antibiótica, antifúngica e antiviral, cardiovascular, hormonal e tranquilizadora, sedativos e auxiliares na insónia.²²

Vários estudos evidenciam a relação entre a depressão e a existência de alterações na plasticidade estrutural e sináptica, nas atividades neurotrófica (como o Fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF)) e neurotransmissora (como serotonina, noradrenalina e dopamina) e na resposta a stress.^{23,24}

A depressão *major* é mais que “um mau dia” ou alguns “dias um pouco mais tristes”, é um ânimo diminuído severo, uma tristeza profunda, uma anedonia persistente. Esta é muitas vezes acompanhada também por ansiedade e ataques de pânico. É necessário distingui-la de uma outra doença psiquiátrica designada de Doença Bipolar. Os doentes com esta patologia podem ser diagnosticados erroneamente com depressão *major*. A doença bipolar é caracterizada por alterações de humor entre dois extremos: a depressão e a mania. O estado de mania caracteriza-se por uma sensação de muita energia, ter dificuldades em relaxar ou dormir, desenvolvimento de uma autoestima exagerada que acredita que é bem-sucedido em tudo, e praticar atividades de risco sem qualquer consciência das consequências. Por vezes, este estado de mania não tratada pode chegar a ilusões ou alucinações. Caso a fase maníaca não se faça acompanhar de sintomas psicóticos e os sintomas supramencionados não apresentem uma intensidade

excessiva, então designa-se de “hipomania”.^{25,26} Na fase de depressão da Doença Bipolar, os sintomas são os mesmos que na Depressão *major*, embora alguns estudos sugiram um maior número de episódios depressivos na doença bipolar, mas manifesta-se com menor duração comparativamente com a depressão *major*.²⁷

2.2.Diagnóstico: sistemas de critérios

A heterogeneidade dos sintomas da depressão, o desconhecimento da sua exata causa e a possibilidade de coexistência de outros distúrbios psicológicos (como a ansiedade) dificultam um diagnóstico preciso.

Em Portugal, e de acordo com a Norma nº 034/2012 de 30/12/2012 da Direção-Geral de Saúde, “o diagnóstico de depressão *major* (DM) deverá ter em consideração os critérios da ICD-10 e/ou DSM-IV”.²⁸

Ambos os sistemas de critérios de diagnóstico requerem a presença de pelo menos 1 (DSM-IV) ou 2 (ICD-10) sintomas-chave (DSM-IV e ICD-10: tristeza persistente/ humor deprimido e perda de prazer/interesse; na ICD-10 acresce também a falta de energia), cujo(s) critério(s) deve(m) estar presentes pelo menos durante as 2 semanas anteriores, diariamente e quase todo o dia. Caso este critério se verifique, devem ser aferidos quantos dos sintomas associados se verificam no mesmo período de tempo. Quanto ao sistema ICD-10, os sintomas associados são: distúrbio do sono, dificuldade na concentração ou decisão, baixa autoestima, aumento/diminuição de apetite, atos ou pensamentos suicidas, agitação ou diminuição dos movimentos, culpa ou auto culpar-se. No sistema DSM-IV, os critérios associados são: distúrbio do sono, aumento/diminuição do apetite e/ou peso não causado pela alimentação, fadiga/ perda de energia, agitação ou diminuição dos movimentos, baixa concentração ou indecisão, sentimento de inutilidade e culpa inapropriada, pensamentos ou atos suicidas.^{18,19,29}

Para o diagnóstico da depressão *major*, e utilizando os critérios da ICD-10, 4 dos 10 sintomas depressivos devem ser verificados, incluindo os 2 sintomas-chave. Utilizando os critérios DSM-IV, o diagnóstico de depressão *major* feito caso se verifique 5 dos 9 sintomas depressivos, incluindo 1 sintoma-chave.¹⁸

O diagnóstico da depressão é também feito, numa avaliação inicial, pelo levantamento da história clínica geral, psiquiátrica e da doença atual, assim como do uso de medicamentos e/ou substâncias e história pessoal, ocupacional, social e familiar. É de referir que a verificação de inexistência de episódio maníaco no passado do doente é necessária para que seja eliminada a possibilidade de se tratar de doença bipolar. Além de ser necessário determinar quais os sintomas depressivos, é também necessário determinar a sua intensidade, periodicidade,

duração e evolução e possíveis fatores de *stress* psicossocial, de forma a delinear medidas a tomar e estratégia terapêutica a aplicar.^{18,28}

2.3.Tratamento: farmacológico e não farmacológico

O tratamento na depressão *major*, e sempre tendo em conta os sintomas – número, intensidade e duração – assim como a história clínica do doente, passa pela terapêutica farmacológica e não-farmacológica.

A terapêutica farmacológica é feita através de medicamentos antidepressivos, com várias classes medicamentosas com diferentes mecanismos de ação. Na tabela 1 está descrita cada uma das classes, mecanismo de ação geral e exemplos de alguns medicamentos utilizados na terapêutica farmacológica da depressão *major*.

Tabela 1 – Terapêutica Farmacológica na Depressão ³⁰⁻³²

| Classe de antidepressivos | Mecanismo de ação geral | Exemplos |
|---|---|---|
| Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina (SSRI) | Inibe o recetor SERT, levando a um aumento de serotonina na fenda sináptica. ^{30,31} | Fluoxetina Citalopram Paroxetina Sertralina Fluvoxamina Escitalopram |
| Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina e Noradrenalina (SNRI) | Inibe os recetores SERT e NET, levando a um aumento de serotonina e noradrenalina na fenda sináptica, respetivamente. ^{31,32} | Duloxetina Venlafaxina Desvenlafaxina |
| Antidepressivos Tricíclicos (ADT) | Inibe os recetores SERT, NET noradrenérgicos $\alpha 1$, muscarínicos e histamínicos. Traduz-se num aumento de serotonina e noradrenalina na fenda sináptica, assim como maiores efeitos adversos. ³¹ | Amitriptilina Imipramina Clomipramina Doxepina |
| Inibidores da monoamino oxidase (MAOIs) | Inibe a enzima monoamino oxidase, inibindo portanto à metabolização dos substratos desta, nomeadamente a serotonina, a noradrenalina e a dopamina. Consequentemente existirá um aumento dos níveis das mesmas na fenda sináptica. ³¹ | Moclobemida Isocarboxazida Selegilina |

Em Portugal, a terapêutica farmacológica é deliberada com base na norma nº 034/2012 – “Terapêutica Farmacológica da Depressão *Major* e da sua Recorrência no Adulto” de 30/12/2012 da Direção-Geral de Saúde. Esta norma indica que, e tendo atenção à idade do doente, “os fatores a considerar na escolha das opções terapêuticas são: a gravidade e cronicidade dos sintomas; presença de fatores de *stress* psicossociais; presença de comorbilidades; crenças culturais; recursos terapêuticos disponíveis; e preferência do doente”. Esta norma indica também que na depressão *major*, a terapêutica farmacológica deve ser feita “com um único fármaco antidepressivo”, mas que “poderá ser associado a outro antidepressivo com um mecanismo de ação diferente no caso de depressão resistente ou quando o foco terapêutico não está coberto pelo antidepressivo inicial”.²⁸ Quanto à escolha do medicamento, como não existe grandes diferenças de eficácia entre eles, a escolha será feita com base na sua “tolerabilidade, segurança, menor custo, bem como a história individual do doente e os antecedentes de resposta a tratamentos realizados anteriormente”. Embora nesta mesma norma seja referido que “os SSRI são bem tolerados e apresentam um perfil de segurança cardiovascular mais favorável”. Caso a depressão *major* seja acompanhada por episódios de ansiedade e insónia, à terapêutica pode ser associada uma benzodiazepina enquanto não existe resposta à ação do antidepressivo.²⁸ Os inibidores da MAO, embora tenham sido dos primeiros antidepressivos a serem utilizados na depressão, já não são muito utilizados uma vez que apresentam mais efeitos adversos em relação a outras classes de antidepressivos. Além disto, a inibição farmacológica da MAO leva também à alteração da metabolização de outros fármacos.²⁸

A terapêutica não-farmacológica pode incluir várias opções, nomeadamente:

- ◆ Psicoterapia – diálogo com um especialista (psicólogo), a sós ou em grupo. Este tratamento tem como objetivo principal resolver alguns dos problemas que possam ter despoletado a depressão, assim como criar um ambiente de suporte, e ajudar na aquisição de hábitos mais saudáveis.³³
- ◆ Exercício físico e Alimentação – a adoção de uma alimentação equilibrada e a prática de exercício físico estão relacionados com uma melhoria na qualidade de vida, existindo estudos que relacionam estes com um menor índice de depressão.^{34,35}
- ◆ Fototerapia – esta terapia é já utilizada na depressão sazonal, uma vez que a luz branca de intensidade superior 2000 lux é um potente sincronizador do ritmo circadiano. Esta sincronização ajuda a melhorar a qualidade do sono, um dos sintomas também da depressão *Major*.^{36,37}

◆ Terapia electroconvulsiva – esta terapia consiste na passagem de um estímulo elétrica controlado, de forma a estimular certas regiões cerebrais, sob anestesia geral e relaxante muscular.³⁸

◆ Estimulação magnética transcranial repetitiva – consiste na utilização de pulsos magnéticos exteriores. Esses pulsos magnéticos induzem um potencial elétrico, levando à despolarização de neurónios alvo no cérebro. É utilizada principalmente em casos de resistência aos antidepressivos, sendo necessárias sessões de manutenção para que os seus efeitos sejam duradouros.³⁸

◆ Estimulação do nervo vago – esta terapia requer uma cirurgia, para implementação de um gerador de pulsos no peito, debaixo da pele, que será conectado com um electro implementado numa fibra do nervo vago, do lado esquerdo do pescoço.³⁸

A utilização de combinações terapêuticas mostraram um maior benefício que a monoterapia. A utilização de antidepressivos em combinação com psicoterapia apresenta grande eficácia, estando associada a um maior probabilidade de remissão e menor risco de recaída, comparativamente à utilização apenas de antidepressivos.²⁸ L. Raymond et al. (2016) mostram que a terapêutica de combinação de fototerapia com fluoxetina leva a uma maior remissão que a fluoxetina em monoterapia.³⁷ A terapia electroconvulsiva é uma opção bastante comum em casos de resistência de antidepressivos e recorrentes episódios depressivos. Embora o seu mecanismo de ação não seja totalmente compreendido, a utilização da terapia electroconvulsiva juntamente com antidepressivos mostra melhores resultados que a utilização dos antidepressivos em monoterapia, e maior percentagem de remissão.³⁸

2.4. Impacto socioeconómico

As estimativas indicam que 4.4% da população global, em 2015, sofria de depressão. Nos últimos 10 anos verificou-se ter havido um aumento de 18.4%, o que reflete a atual tendência de aumento da incidência desta doença, que apresenta maior ocorrência em mulheres (5.1%) que em homens (3.6%).^{17,39} Em Portugal, 22,9% da população sofre de uma perturbação psiquiátrica, sendo o segundo país na Europa com prevalência mais elevada. A perturbação depressiva *major* apresenta uma prevalência de 6,8%, sendo uma das 5 perturbações mentais mais frequentes em Portugal e a principal causa de incapacidade e a segunda em perda de anos de vida saudável.⁴⁰ A depressão *major*, além do impacto social e individual, apresenta também grande impacto económico. A depressão *major* ocorre especialmente em adultos ativos, e tendo uma componente genética associada, a sua prevalência é constante. Como o tratamento farmacológico é eficaz em apenas dois terços dos doentes, existe alto risco de resposta ineficaz e, conseqüentemente, um nível de qualidade de vida diminuído e maior risco de suicídio. Os

custos associados aos cuidados na depressão *major* podem ser diretos (serviços nacionais de saúde) ou indiretos (tutela empregadora).^{41,42} É estimado que na Europa, em 2010, os custos com doenças de humor (depressão *major* e doença bipolar, principalmente) tenha sido de 113 milhões de euros.⁴³ Num estudo sobre o impacto da depressão *major* em Espanha referente a 2009, que apresenta um sistema de saúde similar ao português, foi estimado que os custos diretos no serviço nacional de saúde são de 889€/doente, em média anual, e custos indiretos (associados a baixa médica e perda de produtividade) de 1810€/doente, em média anual.^{43,44} Nos serviços nacionais de saúde, o impacto económico da depressão *major* revela-se tanto nos cuidados médicos requeridos, nos tratamentos farmacológico e não-farmacológico, nos deslocamentos e possível internamento. De acordo com dados disponibilizados pelo INFARMED, em 2017, a termo de encargos económicos no ambulatório, os medicamentos da classe terapêutica “antidepressores” tiveram um peso no mercado de 2,8%. Quanto à utilização, apresenta um peso de mercado de 5.3%, sendo a 5ª classe terapêutica com maior utilização.⁴⁵

3. MicroRNAs na Depressão

3.1. Principais MicroRNAs na Depressão

Desde a descoberta dos microRNAs em 1993, muitos estudos têm vindo a ser feitos de forma a relacionar certas patologias com a desregulação dos miRNAs. Parte desses estudos incide nas doenças neurológicas, como a depressão, de forma a entender qual a etiologia da doença e possível envolvimento dos miRNAs no decurso da mesma.

Na depressão, existe certas áreas no cérebro (amígdala, córtex pré-frontal, talamos e hipocampo) que estão diretamente relacionadas com os sintomas. Estas zonas são responsáveis por processar emoções, movimentos, memória e pensamento.²² É nestas zonas que têm sido realizados os estudos em cérebro post-mortem, avaliando-se o perfil de expressão dos miRNAs e os miRNAs que possam estar envolvidos no desenvolvimento da depressão. Nos estudos realizados em cérebros post-mortem, nas diferentes zonas do mesmo, os miRNAs mais referenciados são os indicados na tabela 2.

Tabela 2 – Principais miRNAs presentes no cérebro post-mortem

| Up-regulated | Down-regulated |
|--------------------------|------------------------|
| miR-24-3p ⁴⁶ | miR-16 ⁴⁸ |
| miR-34c-5p ⁴⁷ | miR-135a ⁴⁸ |
| miR-124a ⁴⁷ | miR-335 ⁴⁹ |
| miR-320c ⁴⁷ | miR-494 ⁴⁹ |
| miR-425-3p ⁴⁶ | miR-1202 ⁵⁰ |

Embora muitos estudos de miRNAs em doenças neurológicas sejam feitos em cérebros post-mortem, foi demonstrado que existem vesículas extra-celulares derivadas de células endoteliais do cérebro na circulação sanguínea, e que dentro destas existem elementos intracelulares, nomeadamente, os miRNAs.⁵¹ Esta descoberta levou a considerar os miRNAs como possíveis candidatos a biomarcadores no sangue das doenças neurológicas.

N. Smalheiser et al (2012) foram um dos primeiros a confirmar alterações no perfil de expressão de miRNAs em indivíduos depressivos. Este estudo, feito em cérebros (córtex pré-frontal) de suicidas que sofriam de depressão e que não estavam a fazer farmacoterapia, demonstrou grande semelhança dentro do grupo em avaliação, e diferenças em relação ao grupo controlo.⁴⁹ Desde então, diversos estudos têm sido publicados, avaliando-se as alterações do perfil de expressão de miRNAs entre indivíduos depressivos e saudáveis, tanto em cérebros post-mortem, como no líquido cefalorraquidiano e no sangue/plasma/soro. Esses estudos tentam, além de compreender a etiologia da depressão, identificar possíveis miRNAs no sangue

que possam ser utilizados como biomarcadores no diagnóstico, avaliação de tratamento e como tratamento da depressão.

Embora várias alterações no perfil de expressão dos miRNAs no sangue tenham sido referidas, ainda não existe grande coerência nos resultados. Vários são os trabalhos publicados sobre o envolvimento dos miRNAs na depressão. Os miRNAs mais referidos nas publicações sobre o tema são os indicados na figura 2.^{13,14,16,23,24,49,52-56}

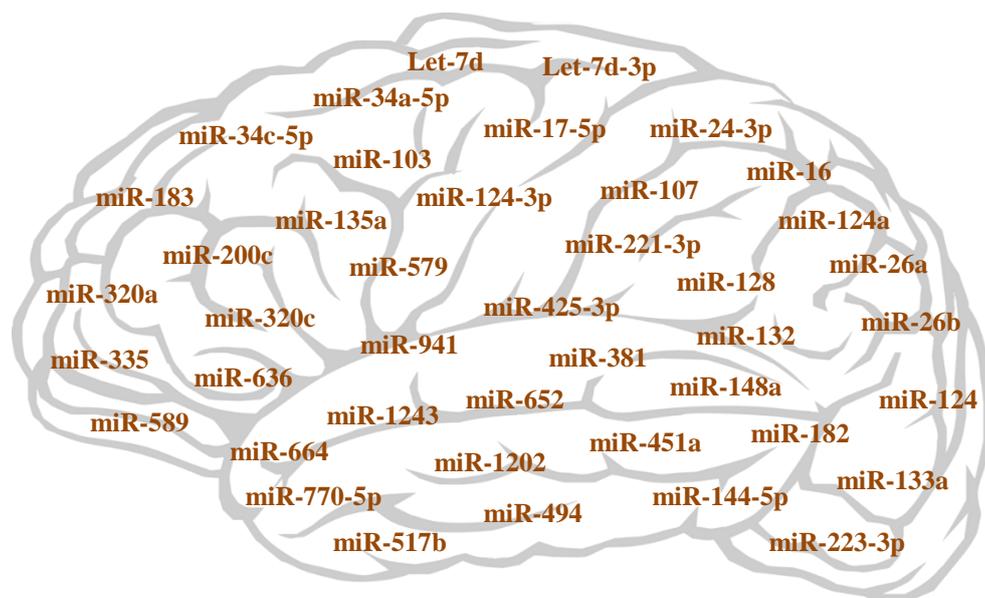


Figura 2 – Principais microRNAs na depressão: Na figura ilustrativa estão representados os miRNAs mais referenciados em publicações relacionadas com os miRNAs na depressão.

3.2. MicroRNAs no sangue como biomarcadores no diagnóstico da depressão

A possibilidade de utilizar os microRNAs circulantes como biomarcadores de doenças em que o diagnóstico é difícil de realizar, ou que o diagnóstico é por vezes tardio, é bastante aliciante. A busca de candidatos a biomarcadores na depressão é crescente, mas a concordância entre os vários estudos é ainda escassa. Dos miRNAs mais referenciados em publicações sobre o tema, os que se apresentam como candidatos a biomarcadores no sangue no diagnóstico da depressão são os miRNAs indicados na figura 3.

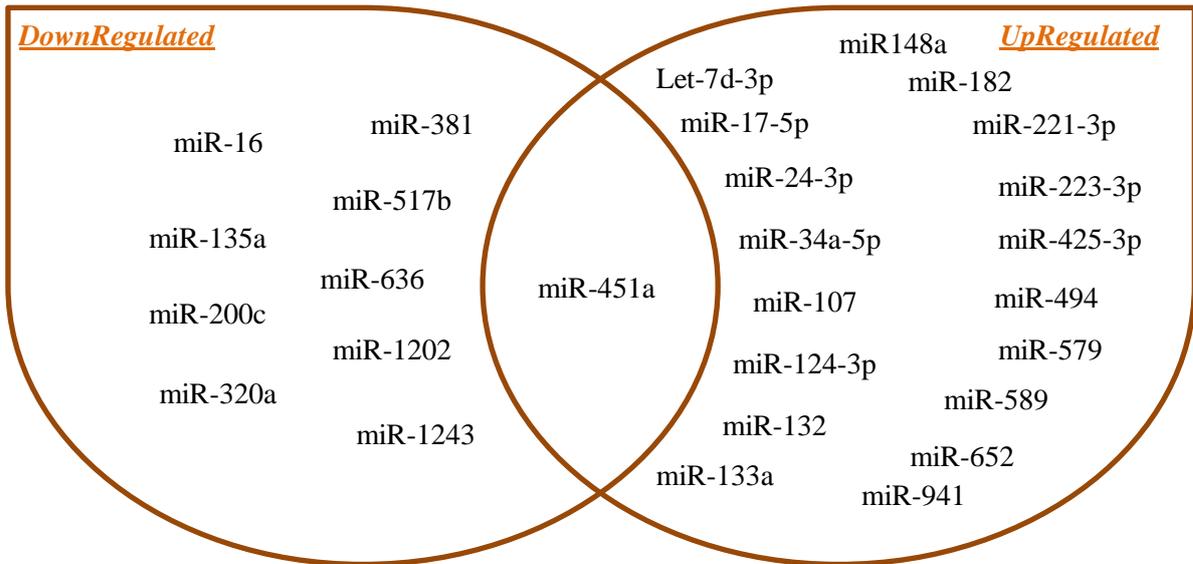


Figura 3 – Principais microRNAs no sangue para diagnóstico da depressão: Diagrama de Venn que mostra os miRNAs mais referenciados em publicações que apresentam um perfil de expressão no sangue diferente do perfil de expressão em condições saudáveis. Dos estudos consultados, 9 miRNAs encontram-se downregulated e 18 miRNAs se encontram upregulated. O miR-451a apresenta resultados diferentes em diferentes estudos.

O perfil de expressão dos miRNAs pode encontrar-se diminuído ou aumentado, isto é, alguns miRNAs apresentam menor expressão que os controlos em condições saudáveis (miR-16⁵⁷, miR-135a⁴⁸, miR-200c⁵⁸, miR-320a⁵⁹, miR-381⁵⁸, miR-517b⁵⁸, miR-636⁵⁸, miR-1202⁵⁷, miR-1243⁵⁸), enquanto que outros miRNAs apresentam maior expressão de miRNA comparativamente com o perfil de expressão de miRNAs em condições saudáveis (let-7d-3p⁶⁰, miR-17-5p⁵⁹, miR-24-3p⁵⁶, miR-34a-5p⁶⁰, miR-107⁵⁸, miR-124-3p⁶¹, miR-132⁶²⁻⁶⁵, miR-133a⁵⁸, miR-148a⁵⁸, miR-182^{55,62}, miR-221-3p^{60,66}, miR-223-3p⁵⁹, miR-425-3p^{56,58}, miR-494⁵⁸, miR-579⁵⁸, miR-589⁵⁸, miR-652⁵⁸, miR-941⁵⁸). Curiosamente, dois estudos mostraram resultados antagónicos no que respeita ao miR-451a^{59,60}. Esta diferença de resultados poderá dever-se à utilização de diferentes técnicas de avaliação, ou a que o miRNA seja referente a outra patologia.

Comparativamente com os miRNAs que apresentam alterações no perfil de expressão no cérebro post-mortem, os miR-16, miR-24-3p, miR-135a, miR-335, miR-425-3p e miR-1202 presentes no sangue apresentam o mesmo tipo de alteração (*upregulated/downregulated*). Apenas o miR-494, que no cérebro post-mortem se encontrava *downregulated*, e que se encontra *upregulated* no estudo de Belzeaux et al (2012), apresenta diferença entre os resultados realizados em sangue e em cérebro post-mortem.

Dos possíveis candidatos a biomarcador no sangue no diagnóstico da depressão, os microRNAs mais estudados e com resultados concordantes são os miR-24-3p, miR-132, miR-182 e miR-425-3p.

O miR-132, que se encontra *upregulated* no sangue em quatro estudos publicados, é tido como um dos responsáveis pela depressão. Está associado à regulação da plasticidade neuronal⁶⁷, memória cognitiva⁶⁴ e regulação dos níveis de BDNF¹⁴. O miR-182 também apresenta evidência que a sua desregulação *upregulated* está associada à diminuição da expressão de BDNF⁶². Tanto o miR-24-3p como o miR-425-3p apresentam-se *upregulated* tanto em cérebro post-mortem como no sangue. Existe evidência que estes dois miRNAs estão envolvidos na regulação da via Proteína quinase ativada por mitogenose/Wnt (MAPK/Wnt), que está associado à atividade neurotrófica.⁴⁶

3.3. MicroRNAs no sangue como biomarcadores na avaliação de tratamento da depressão

O grande objetivo do tratamento da Depressão *Major* é a remissão da doença. O curso da doença e do tratamento varia de pessoa para pessoa, assim como o tempo que dura atingir esse objetivo⁴². Tal como suprarreferido, estima-se que cerca de um terço dos doentes que foram sujeitos a farmacoterapia sejam resistentes a certos medicamentos antidepressivos. Esta resistência ao tratamento pode levar a um agravamento da doença.

O impacto dos antidepressivos nas alterações do perfil de expressão dos miRNAs tem sido alvo de estudo. A avaliação das alterações de expressão dos miRNAs pode ajudar a entender qual a melhor terapêutica para cada doente e a avaliar se a terapêutica instituída está a surtir efeito para a remissão da depressão naquele doente.

Para uma avaliação coerente da eficácia de tratamento, é necessário ter em conta os níveis dos miRNAs pré e pós tratamento. A atribuição da designação *upregulated/downregulated*, nos miRNAs candidatos a biomarcadores na avaliação do tratamento, tem em conta os níveis antes da realização do tratamento. Assim, um miRNAs pode encontrar-se *downregulated* comparativamente com os valores pré-tratamento, mas ainda se encontrar *upregulated* face ao grupo controlo. A figura 4 ⁶⁵ ilustra o referido.

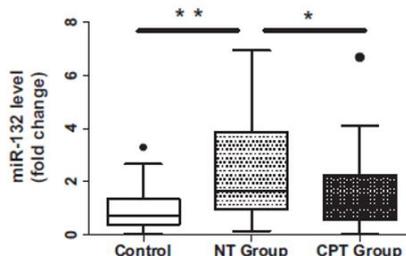


Figura 4 – Níveis de miR-132, em grupo controlo (control), grupo não tratado (NT group) e grupo tratado com citalopram (CPT group) Adaptado de Fang, Y. et al (2017)

Dos miRNAs mais referenciados em publicações sobre a alteração do perfil de expressão dos miRNAs antes e após tratamento com um medicamento antidepressivo, e que se apresentam como candidatos a biomarcadores no sangue na avaliação do tratamento da depressão são os miRNAs referidos na figura 5. A avaliação pós-tratamento dos estudos descritos é realizada 8 semanas após avaliação pré-tratamento.

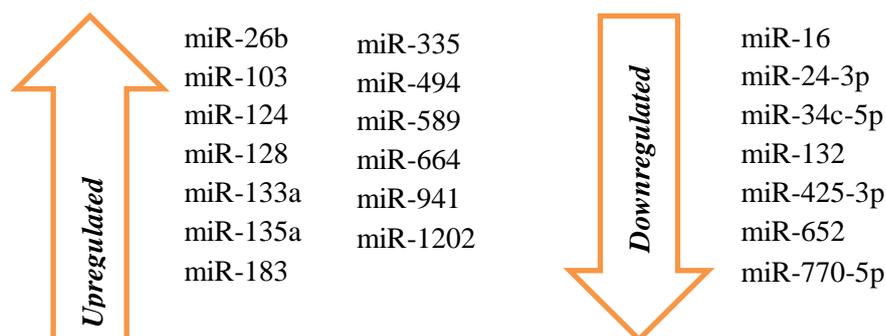


Figura 5 – Principais microRNAs no sangue para diagnóstico da depressão: miRNAs mais referenciados em estudos sobre a alteração do perfil de expressão dos miRNAs antes e após tratamento com medicamentos antidepressivos

Os miRNAs let-7d e miR-26a, em dois estudos distintos, mas com o mesmo antidepressivo (escitalopram), mostram resultados antagônicos^{68,69}. Enatescu, V. R. et al. (2016) referem no seu estudo esta discrepância, atribuindo a possibilidade da mesma se dever à utilização de diferentes tipos de amostra.⁶⁸

As alterações do perfil de expressão dos miRNAs devido à terapia farmacológica foram avaliados principalmente com os seguintes antidepressivos:

- ◆ Citalopram – miR-124⁶⁵, miR-132⁶⁵
- ◆ Desvenlafaxina – miR-1202⁷⁰
- ◆ Duloxetina – miR-16⁵⁷, miR-24-3p⁴⁶, miR-135a⁵⁷, miR-425-3p⁴⁶
- ◆ Escitalopram – let-7d^{68,69}, miR-26a^{68,69}, miR-26b⁶⁹, miR-34c-5p⁶⁹, miR-103⁶⁹, miR-128⁶⁹, miR-132⁶⁹, miR-183⁶⁹, miR-335⁶⁹, miR-494⁶⁹, miR-589⁶⁹, miR-652⁶⁸, miR-664⁶⁹, miR-770-5p⁶⁹
- ◆ Fluoxetina – miR-135a⁴⁸
- ◆ Imipramina – miR-135a⁴⁸

Os miR-24-3p, miR-132, miR-425-3p e miR-652 encontram-se inicialmente *upregulated*, sendo que após tratamento com antidepressivos, a sua expressão diminui. Já os miR-135a, miR-

335 e miR-1202 encontram-se inicialmente *downregulated* e após tratamento a sua expressão aumenta.

Existe, no entanto alguns miRNAs (miR-16^{48,57} e miR-589^{58,69}) cuja expressão não altera para níveis próximos dos grupos controlo, agravando a diminuição e o aumento da expressão, respetivamente, desses mesmos microRNAs. Serão necessários mais estudos com diferentes antidepressivos de forma a entender se apenas os antidepressivos estudados poderão não alterar o perfil de expressão dos miR-16 e miR-589 para valores mais próximos do considerado normal.

4. Perspetivas futuras

A depressão, sendo uma doença neurológica cujo diagnóstico não apresenta uma base biológica, necessita de biomarcadores para o seu diagnóstico. O facto de apenas dois terços dos doentes, que fazem farmacoterapia, responderem ao tratamento, e que um dos efeitos adversos da terapêutica farmacológica é o agravamento da doença, indica que é necessário uma avaliação do tratamento mais fiável e precisa.

Alguns dos resultados da literatura sugerem que para a otimização da utilização dos microRNAs como biomarcadores, devem ainda ser normalizados os processos de extração, quantificação, análise e perfis dos miRNAs, para que os dados recolhidos em cada um dos estudos possam ser comparáveis.^{1,2}

Mais estudos são necessários realizar neste âmbito, de forma a entender quais os miRNAs implicados na depressão. Assim como quais os valores normais desses mesmos miRNAs e qual a ação de cada um dos antidepressivos no perfil de expressão dos miRNAs implicados na depressão.

Num futuro, provavelmente ainda longínquo, a possível utilização dos microRNAs no diagnóstico da depressão poderá ajudar mais doentes que por medo ou vergonha de recorrerem a consulta médica, não são diagnosticados nem são submetidos a qualquer tratamento. A implementação dos miRNAs como biomarcadores da depressão em consultas de medicina do trabalho, especialmente em empregos stressantes e que possam colocar a vida de outras pessoas em perigo, pode ajudar a evitar mortes causadas direta ou indiretamente pela depressão. Com esse diagnóstico, a utilização dos miRNAs poderá também auxiliar na melhor estratégia terapêutica e avaliar o decurso do tratamento.

Bibliografia

1. ALMEIDA, M. I., REIS, R. M. and CALIN, G. A. **MicroRNA history: Discovery, recent applications, and next frontiers.** *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.* 717, (2011) 1–8
2. BHASKARAN, M. and MOHAN, M. **MicroRNAs: History, Biogenesis, and Their Evolving Role in Animal Development and Disease.** *Vet. Pathol.* 51, (2014) 759–774
3. BARTEL, D. P. **MicroRNAs: Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function.** *Cell* 116, (2004) 281–297
4. GRIFFITHS-JONES, S., SAINI, H. K., VAN DONGEN, S. and ENRIGHT, A. J. **miRBase: Tools for microRNA genomics.** *Nucleic Acids Res.* 36, (2008) 154–158
5. SIMONSON, B. and DAS, S. **MicroRNA Therapeutics: the Next Magic Bullet?** *Mini Rev. Med. Chem.* 15, (2015) 467–74
6. HAWLEY, Z. C. E., CAMPOS-MELO, D., DROPPELMANN, C. A. and STRONG, M. J. **MotomiRs: miRNAs in Motor Neuron Function and Disease.** *Front. Mol. Neurosci.* 10, (2017)
7. MACFARLANE, L.-A. and R. MURPHY, P. **MicroRNA: Biogenesis, Function and Role in Cancer.** *Curr. Genomics* 11, (2010) 537–561
8. GHILDIYAL, M. and ZAMORE, P. D. **Small silencing RNAs: an expanding universe.** *Nat. Rev. Genet.* 10, (2009) 94–108
9. ERSON, A. E. and PETTY, E. M. **MicroRNAs in development and disease.** *Clin. Genet.* 74, (2008) 296–306
10. BERINDAN-NEAGOE, I., MONROIG, P. DEL C., PASCULLI, B. and CALIN, G. A. **MicroRNAome genome: A treasure for cancer diagnosis and therapy.** *CA. Cancer J. Clin.* 64, (2014) 311–336
11. ORANG, A. V., SAFARALIZADEH, R. and KAZEMZADEH-BAVILI, M. **Mechanisms of miRNA-mediated gene regulation from common downregulation to mRNA-specific upregulation.** *Int. J. Genomics* 2014, (2014)
12. YIN, H., SONG, P., SU, R., YANG, G., DONG, L., LUO, M., WANG, B., GONG, B., LIU, C., SONG, W., WANG, F., MA, Y., ZHANG, J., WANG, W. and YU, J. **DNA Methylation mediated down-regulating of MicroRNA-33b and its role in gastric cancer.** *Sci. Rep.* 6, (2016) 18824
13. DWIVEDI, Y. **Emerging role of microRNAs in major depressive disorder: diagnosis and therapeutic implications.** *Dialogues Clin. Neurosci.* 16, (2014) 43–61
14. YUAN, H., MISCHOULON, D., FAVA, M. and OTTO, M. W. **Circulating microRNAs as biomarkers for depression: Many candidates, few finalists.** *J. Affect. Disord.* 233, (2018)

15. MOHR, A. and MOTT, J. **Overview of MicroRNA Biology**. *Semin. Liver Dis.* 35, (2015) 003-011
16. SAAVEDRA, K., MOLINA-MÁRQUEZ, A., SAAVEDRA, N., ZAMBRANO, T. and SALAZAR, L. **Epigenetic Modifications of Major Depressive Disorder**. *Int. J. Mol. Sci.* 17, (2016) 1279
17. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Depression and other common mental disorders: global health estimates**. World Health Organization (2017). doi:CC BY-NC-SA 3.0 IGO
18. NATIONAL INSTITUTE FOR HEALTH AND CARE EXCELLENCE. **Depression in adults: recognition and management management Clinical guideline**. (2009).
19. APA. **Depressive Disorders**. in *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (American Psychiatric Association, 2013). 1–15
doi:10.1176/appi.books.9780890425596.dsm04
20. LOLAK, S., SUWANNARAT, P. and LIPSKY, R. H. **Epigenetics of Depression**. in *Progress in Molecular Biology and Translational Science* (2014). 103–137
doi:10.1016/B978-0-12-800977-2.00005-X
21. SULLIVAN, P. F. et al. **A mega-Analysis of genome-wide association studies for major depressive disorder**. *Mol. Psychiatry* 18, (2013) 497–511
22. **What causes depression?** *Harvard Health Publishing* (2017) [Em linha] [Consultado 19 junho 2018] Disponível em <https://www.health.harvard.edu/mind-and-mood/what-causes-depression>.
23. ARTIGAS, F., CELADA, P. and BORTOLOZZI, A. **Can we increase the speed and efficacy of antidepressant treatments? Part II. Glutamatergic and RNA interference strategies**. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 28, (2018) 457–482
24. DWIVEDI, Y. **MicroRNAs in depression and suicide: Recent insights and future perspectives**. *J. Affect. Disord.* 240, (2018) 146–154
25. **Bipolar disorder** *Harvard Health Publishing*. (2014) [Em linha] [Consultado 19 junho 2018] Disponível em <https://www.health.harvard.edu/mental-health/bipolar-disorder>.
26. **Bipolar disorder (manic depressive illness)**. *Harvard Health Publishing* [Em linha] [Consultado 19 junho 2018] Disponível em <https://www.health.harvard.edu/depression/bipolar-disorder-manic-depressive-illness-or-manic-depression->.
27. CUELLAR, A. K., JOHNSON, S. L. and WINTERS, R. **Distinctions between bipolar and unipolar depression**. *Clin. Psychol. Rev.* 25, (2005) 307–339

28. DIRECÇÃO-GERAL DA SAÚDE. **Normas DGS: Terapêutica Farmacológica da Depressão major e da sua Recorrência no Adulto.** *Direção geral de Saúde* (2012). 1–21
29. WORLD HEALTH ORGANISATION. **ICD-10 depression diagnostic criteria.** *GP Notebook* (2013) [Em linha] [Consultado 17 junho 2018] Disponível em <http://www.gpnotebook.co.uk/simplepage.cfm?ID=x20091123152205182440>.
30. STAHL, S. M. **Mechanism of action of serotonin selective reuptake inhibitors. Serotonin receptors and pathways mediate therapeutic effects and side effects.** *J. Affect. Disord.* 51, (1998) 215–35
31. SMITHA BHANDARI. **How Antidepressants Work: SSRIs, MAOIs, Tricyclics, and More.** *WebMD Medical* (2017) [Em linha] [Consultado 2 julho 2018] Disponível em <https://www.webmd.com/depression/how-different-antidepressants-work#1>.
32. LAMBERT, O. and BOURIN, M. **SNRIs: Mechanism of action and clinical features.** *Expert Review of Neurotherapeutics* 2, (2002) 849–858
33. UNDERSTANDING PSYCHOTHERAPY. **Understanding psychotherapy and how it works.** *APA* (2017) [Em linha] [Consultado 7 julho 2018] Disponível em <http://www.apa.org/helpcenter/understanding-psychotherapy.aspx>.
34. SCHUCH, F. B., VANCAMPFORT, D., ROSENBAUM, S., RICHARDS, J., WARD, P. B. and STUBBS, B. **Exercise improves physical and psychological quality of life in people with depression: A meta-analysis including the evaluation of control group response.** *Psychiatry Res.* 241, (2016) 47–54
35. **Food and mood: Is there a connection?** *Harvard Health Publishing* (2018) [Em linha] [Consultado 10 julho 2018] Disponível em <https://www.health.harvard.edu/mind-and-mood/food-and-mood-is-there-a-connection>.
36. GYSIN, O. I. S., GYSIN, T. and GROSS, O. I. S. **A Depressão do Inverno e a Fototerapia.** *Acta Med. Port.* (1997) 887–893
37. LAM, R. W., LEVITT, A. J., LEVITAN, R. D., MICHALAK, E. E., CHEUNG, A. H., MOREHOUSE, R., RAMASUBBU, R., YATHAM, L. N. and TAM, E. M. **Efficacy of Bright Light Treatment, Fluoxetine, and the Combination in Patients With Nonseasonal Major Depressive Disorder.** *JAMA Psychiatry* 73, (2016) 56
38. MÜLLER, H. H. O., MOELLER, S., LÜCKE, C., LAM, A. P., BRAUN, N. and PHILIPSEN, A. **Vagus nerve stimulation (VNS) and other augmentation strategies for therapy-resistant depression (TRD): Review of the evidence and clinical advice for use.** *Front. Neurosci.* 12, (2018) 1–10
39. DIRECÇÃO-GERAL DE SAÚDE - **Depressão E Outras Perturbações Mentais**

Comuns (2017) [Em linha] [Consultado 12 julho 2018] Disponível em <https://www.dgs.pt/ficheiros-de-upload-2013/dms2017-depressao-e-outras-perturbacoes-mentais-comuns.aspx>

40. CALDAS DE ALMEIDA, J., XAVIER, M., CARDOSO, G., PEREIRA, M., GUSMÃO, R., CORRÊA, B., GAGO, J., TALINA, M. and SILVA, J. **Estudo Epidemiológico Nacional de Saúde Mental - 1.º Relatório**. Lisboa. Faculdade de Ciências Médicas de Lisboa (2013) [Em linha] [Consultado 14 julho 2018] Disponível em www.fcm.unl.pt/main/alldoc/galeria_imagens/Relatorio_Estudo_Saude-Mental_2.pdf

41. ARTIGAS, F., BORTOLOZZI, A. and CELADA, P. **Can we increase speed and efficacy of antidepressant treatments? Part I: General aspects and monoamine-based strategies**. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 28, (2018) 445–456

42. MCKEEVER, A., AGIUS, M. and MOHR, P. **A Review of the epidemiology of major depressive disorder and of its consequences for society and the individual**. *Psychiatr. Danub.* 29, (2017) S222–S231

43. GUSTAVSSON, A. et al. **Cost of disorders of the brain in Europe 2010**. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 21, (2011) 718–779

44. SICRAS-MAINAR, A., BLANCA-TAMAYO, M., GUTIÉRREZ-NICUESA, L., SALVATELLA-PASANT, J. and NAVARRO-ARTIEDA, R. **Impacto de la morbilidad, uso de recursos y costes en el mantenimiento de la remisión de la depresión mayor en España: estudio longitudinal de ámbito poblacional**. *Gac. Sanit.* 24, (2010) 13–19

45. INFARMED. **Monitorização mensal do consumo de medicamentos em Meio Ambulatório**. Infarmed (2017) [Em linha] [Consultado 12 julho 2018] Disponível em <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/monitorizacao-mercado/relatorios/ambulatorio>

46. LOPEZ, J. P. et al. **MicroRNAs 146a/b-5 and 425-3p and 24-3p are markers of antidepressant response and regulate MAPK/Wnt-system genes**. *Nat. Commun.* 8, (2017) 15497

47. LOPEZ, J. P., FIORI, L. M., GROSS, J. A., LABONTE, B., YERKO, V., MECHAWAR, N. and TURECKI, G. **Regulatory role of miRNAs in polyamine gene expression in the prefrontal cortex of depressed suicide completers**. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 17, (2014) 23–32

48. ISSLER, O., HARAMATI, S., PAUL, E. D., MAENO, H., NAVON, I., ZWANG, R., GIL, S., MAYBERG, H. S., DUNLOP, B. W., MENKE, A., AWATRAMANI, R., BINDER, E. B., DENERIS, E. S., LOWRY, C. A. and CHEN, A. **MicroRNA 135 is essential for chronic stress resiliency, antidepressant efficacy, and intact serotonergic activity**. *Neuron* 83, (2014) 344–360

49. SMALHEISER, N. R., LUGLI, G., RIZAVI, H. S., TORVIK, V. I., TURECKI, G. and

DWIVEDI, Y. **MicroRNA expression is down-regulated and reorganized in prefrontal cortex of depressed suicide subjects.** *PLoS One* 7, (2012) 1–11

50. LOPEZ, J. P., LIM, R., CRUCEANU, C., CRAPPER, L., FASANO, C., LABONTE, B., MAUSSION, G., YANG, J. P., YERKO, V., VIGNEAULT, E., MESTIKAWY, S. EL, MECHAWAR, N., PAVLIDIS, P. and TURECKI, G. **miR-1202: A Primate Specific and Brain Enriched miRNA Involved in Major Depression and Antidepressant Treatment.** *Nat. Med.* 20, (2014) 764–768

51. ANDRÁS, I. E. and TOBOREK, M. **Extracellular vesicles of the blood-brain barrier.** *Tissue Barriers* 4, (2016) e1131804

52. ROY, B. and DWIVEDI, Y. **Understanding Depression: Volume 1. Biomedical and Neurobiological Background.** 1, Springer Singapore (2018).

53. ALURAL, B., GENÇ, S. and HAGGARTY, S. J. **Diagnostic and therapeutic potential of microRNAs in neuropsychiatric disorders: Past, present, and future.** *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 73, (2017) 87–103

54. DWIVEDI, Y. **Pathogenetic and therapeutic applications of microRNAs in major depressive disorder.** *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry* 64, (2016) 341–348

55. GURURAJAN, A., CLARKE, G., DINAN, T. G. and CRYAN, J. F. **Molecular biomarkers of depression.** *Neurosci. Biobehav. Rev.* 64, (2016) 101–133

56. MAFFIOLETTI, E., CATTANEO, A., ROSSO, G., MAINA, G., MAJ, C., GENNARELLI, M., TARDITO, D. and BOCCHIO-CHIAVETTO, L. **Peripheral whole blood microRNA alterations in major depression and bipolar disorder.** *J. Affect. Disord.* 200, (2016) 250–258

57. FIORI, L. M., LOPEZ, J. P., RICHARD-DEVANTOY, S., BERLIM, M., CHACHAMOVICH, E., JOLLANT, F., FOSTER, J., ROTZINGER, S., KENNEDY, S. H. and TURECKI, G. **Investigation of miR-1202, miR-135a, and miR-16 in Major Depressive Disorder and Antidepressant Response.** *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 20, (2017) 619–623

58. BELZEAUX, R., BERGON, A., JEANJEAN, V., LORIOD, B., FORMISANO-TRÉZINY, C., VERRIER, L., LOUNDOU, A., BAUMSTARCK-BARRAU, K., BOYER, L., GALL, V., GABERT, J., NGUYEN, C., AZORIN, J. M., NAUDIN, J. and IBRAHIM, E. C. **Responder and nonresponder patients exhibit different peripheral transcriptional signatures during major depressive episode.** *Transl. Psychiatry* 2, (2012)

59. CAMKURT, M. A., ACAR, Ş., COŞKUN, S., GÜNEŞ, M., GÜNEŞ, S., YILMAZ, M. F., GÖRÜR, A. and TAMER, L. **Comparison of plasma MicroRNA levels in drug naive, first episode depressed patients and healthy controls.** *J. Psychiatr. Res.* 69, (2015) 67–71

60. WAN, Y., LIU, Y., WANG, X., WU, J., LIU, K., ZHOU, J., LIU, L. and ZHANG, C.

Identification of Differential MicroRNAs in Cerebrospinal Fluid and Serum of Patients with Major Depressive Disorder. *PLoS One* 10, (2015) e0121975

61. ROY, B., DUNBAR, M., SHELTON, R. C. and DWIVEDI, Y. **Identification of MicroRNA-124-3p as a Putative Epigenetic Signature of Major Depressive Disorder.** *Neuropsychopharmacology* 42, (2017) 864–875

62. LI, Y.-J., XU, M., GAO, Z.-H., WANG, Y.-Q., YUE, Z., ZHANG, Y.-X., LI, X.-X., ZHANG, C., XIE, S.-Y. and WANG, P.-Y. **Alterations of Serum Levels of BDNF-Related miRNAs in Patients with Depression.** *PLoS One* 8, (2013) e63648

63. LIU, Y., YANG, X., ZHAO, L., ZHANG, J., LI, T. and MA, X. **Increased miR-132 level is associated with visual memory dysfunction in patients with depression.** *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 12, (2016) 2905–2911

64. QI, S., YANG, X., ZHAO, L., CALHOUN, V. D., PERRONE-BIZZOZERO, N., LIU, S., JIANG, R., JIANG, T., SUI, J. and MA, X. **MicroRNA132 associated multimodal neuroimaging patterns in unmedicated major depressive disorder.** *Brain* 141, (2018) 916–926

65. FANG, Y., QIU, Q., ZHANG, S., SUN, L., LI, G., XIAO, S. and LI, X. **Changes in miRNA-132 and miR-124 levels in non-treated and citalopram-treated patients with depression.** *J. Affect. Disord.* 227, (2017) 745–751

66. FAN, H. MIN, SUN, X. Y., GUO, W., ZHONG, A. F., NIU, W., ZHAO, L., DAI, Y. H., GUO, Z. M., ZHANG, L. Y. and LU, J. **Differential expression of microRNA in peripheral blood mononuclear cells as specific biomarker for major depressive disorder patients.** *J. Psychiatr. Res.* 59, (2014) 45–52

67. ATEN, S., HANSEN, K. F., HOYT, K. R. and OBRIETAN, K. **The miR-132/212 locus: a complex regulator of neuronal plasticity, gene expression and cognition.** *Rna Dis.* 3, (2016) 1–6

68. ENATESCU, V. R., PAPAVAL, I., ENATESCU, I., ANTONESCU, M., ANGHEL, A., SECLAMAN, E., SIRBU, I. O. and MARIAN, C. **Circulating Plasma Micro RNAs in Patients with Major Depressive Disorder Treated with Antidepressants: A Pilot Study.** *Psychiatry Investig.* 13, (2016) 549

69. BOCCHIO-CHIAVETTO, L., MAFFIOLETTI, E., BETTINSOLI, P., GIOVANNINI, C., BIGNOTTI, S., TARDITO, D., CORRADA, D., MILANESI, L. and GENNARELLI, M. **Blood microRNA changes in depressed patients during antidepressant treatment.** *Eur. Neuropsychopharmacol.* 23, (2013) 602–611

70. LOPEZ, J. P., PEREIRA, F., RICHARD-DEVANTOY, S., BERLIM, M., CHACHAMOVICH, E., FIORI, L. M., NIOLA, P., TURECKI, G. and JOLLANT, F. **Co-Variation of Peripheral Levels of**

miR-1202 and Brain Activity and Connectivity During Antidepressant Treatment.

Neuropsychopharmacology 42, (2017) 2043–2051