



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA



Sara Marlene de Almeida Martins

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Alterações do Ritmo Circadiano na Doença de Alzheimer” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, respetivamente, da Doutora Marília João Rocha e Dra. Rosa Cerveira e da Professora Doutora Cláudia Margarida Gonçalves Cavadas 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

Sara Marlene de Almeida Martins

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Alterações do Ritmo Circadiano na Doença de Alzheimer” realizados no âmbito da unidade curricular “Estágio” sob orientação da Doutora Marília João Rocha, da Dr.<sup>a</sup> Rosa Maria da Cruz Cerveira e da Professora Doutora Cláudia Margarida Gonçalves Cavadas, 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



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Sara Marlene de Almeida Martins, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2013132056, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Alterações do Ritmo Circadiano na Doença de Alzheimer” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 6 de setembro de 2018.

Sara Martins

---

(Sara Marlene de Almeida Martins)

## **AGRADECIMENTOS**

À **Professora Doutora Cláudia Cavadas**, pela confiança que em mim depositou, pela sua disponibilidade constante, orientação exemplar, motivação e apoio demonstrados durante a elaboração da monografia. O meu mais profundo e sincero obrigada!

À **Dr.ª Marília Rocha** pelo aconselhamento ímpar, acompanhamento diligente e pelos valiosos valores transmitidos ao longo do estágio de Farmácia Hospitalar. Um agradecimento também a todos os que cruzaram o meu caminho nos setores do Aprovisionamento e Farmacotecnia, em particular à **Dr.ª Paula Dinis**.

À equipa da **Farmácia Nova**, na pessoa da **Dr.ª Rosa Cerveira**, por prontamente acederem ao meu pedido para estagiar na farmácia, por tão bem me terem acolhido, pelos ensinamentos, apoio e amizade, e por me motivarem diariamente a fazer mais e melhor.

Aos **meus pais**, por serem exemplos de coragem, pelo apoio incondicional, por toda a força transmitida e confiança que sempre depositaram em mim.

Aos meus **amigos**, pelas inúmeras aventuras partilhadas ao longo destes 5 anos e por terem sido o meu porto de abrigo.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota” - (Madre Teresa de Calcutá)

# ÍNDICE

## Capítulo I – Relatório de Estágio de Farmácia Hospitalar

I. LISTA DE ABREVIATURAS .....	2
1. Introdução .....	3
2. Farmácia Hospitalar .....	3
2.1. Atividade Farmacêutica .....	3
2.2. Serviços Farmacêuticos .....	4
3. Análise Swot do Estágio em Farmácia Hospitalar .....	5
3.1. Pontos Fortes .....	5
3.1.1. Orientação e Facilidade de Integração no Estágio .....	5
3.1.2. Autonomia na Cedência de Medicamentos em Regime de Ambulatório.....	6
3.1.3. Atendimento de Hemoderivados .....	6
3.1.4. Contacto com Preparações de Administração Intravenosa .....	7
3.1.5. Estágio na Radiofarmácia .....	7
3.1.6. Protocolos de Quimioterapia.....	8
3.1.7. Utilização dos Sistemas de Distribuição.....	8
3.1.8. Complementaridade com Outros Profissionais de Saúde .....	9
3.1.9. Integração dos Conhecimentos Teóricos no Estágio .....	9
3.2. Pontos Fracos .....	10
3.2.1. Conhecimentos Pouco Explorados.....	10
3.2.2. Impossibilidade de Cumprir o Plano de Estágio .....	10
3.3. Oportunidades .....	10
3.3.1. Trabalhos de Revisão.....	10
3.3.2. Aprimoramento de Conhecimentos na Área da Hipertensão Pulmonar .....	11
3.3.3. Contacto com o Sistema Informático (SGIM) .....	11
3.4. Ameaças.....	11
3.4.1. Dificuldade no Acesso à Carreira de Farmacêutico Hospitalar.....	11
3.4.2. Áreas Pouco Exploradas Pelo Farmacêutico? .....	12
4. Conclusão .....	12
5. Referências Bibliográficas .....	13
6. Anexos.....	14

## Capítulo II - Relatório de Estágio de Farmácia Comunitária

I. LISTA DE ABREVIATURAS .....	19
1. Introdução.....	20
2. Farmácia Nova de Águeda .....	20
3. Análise Swot do Estágio em Farmácia Comunitária .....	21
3.1. Pontos Fortes .....	21
3.1.1. Acolhimento e Facilidade de Integração no Estágio .....	21
3.1.2. Localização da Farmácia e Público-Alvo.....	22
3.1.3. Orientação Faseada do Estágio .....	22
3.1.4. Autonomia na Realização das Tarefas .....	23
3.1.5. Indicação Farmacêutica .....	23
3.1.6. Prestação de Serviços Farmacêuticos.....	24
3.1.7. Trabalho de Pesquisa.....	25
3.2. Pontos Fracos .....	25
3.2.1. Conhecimentos Pouco Explorados no MICF.....	25
3.2.2. Preparação de Medicamentos Manipulados .....	26
3.3. Oportunidades .....	26
3.3.1. Participação em Formações .....	26
3.3.2. Metodologia <i>Kaizen</i> .....	27
3.3.3. Participação na Feira da Saúde .....	28
3.4. Ameaças.....	28
3.4.1. Medicamentos Esgotados .....	28
3.4.2. Proximidade de Locais de Venda de MNSRM .....	28
4. Conclusão .....	29
5. Referências Bibliográficas .....	30
6. Anexos.....	31

## Capítulo III - Alterações do Ritmo Circadiano na Doença de Alzheimer

I. LISTA DE ABREVIATURAS.....	37
II. LISTA DE FIGURAS.....	39
III. RESUMO .....	40
IV. ABSTRACT.....	41
1. Introdução .....	42
2. Doença de Alzheimer .....	43
2.1. Epidemiologia.....	43
2.2. Caracterização dos Fatores de Risco.....	43
2.3. Fisiopatologia e Mecanismos Moleculares da Doença.....	44
3. Sistema Circadiano .....	47
3.1. Relógios Moleculares Endógenos - Constituição e Funcionamento .....	48
3.1.1. Núcleo Supraquiasmático .....	48
3.1.2. Genes Relógio .....	49
3.2. Ritmicidade da Melatonina e a Promoção do Sono .....	51
4. Ritmo Circadiano e o Envelhecimento.....	53
5. Desregulação dos Ritmo Circadiano na Doença de Alzheimer – Mudanças Fisiológicas e Neuropatológicas.....	54
5.1. Perda Neuronal no SCN.....	55
5.2. Alterações nos Níveis de Melatonina.....	55
5.3. Alterações do Sistema Colinérgico .....	56
5.4. Perda da Recepção da Informação Fóptica (ipRGCs) .....	57
5.5. Alterações dos Genes Relógio .....	57
6. Alterações do Ciclo Sono – Vigília.....	58
6.1. O Sono e o Peptídeo A $\beta$ – Relação Bidirecional .....	58
6.2. Orexina .....	62
7. Relógios Periféricos e Alterações Metabólicas.....	63
8. Dessincronização Circadiana em Modelos Animais.....	65
9. Diagnóstico da Dessincronização Circadiana na Doença de Alzheimer .....	67
10. Cronoterapia Aplicada à Doença de Alzheimer .....	68
10.1. Fototerapia.....	68
10.2. Terapêutica com Melatonina .....	69
11. Considerações Finais e Perspetivas Futuras .....	71
12. Referências Bibliográficas .....	72
13. Anexos .....	86

# **Capítulo I**

## **Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar**

Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, EPE

Orientadora: Doutora Marília João Rocha

## I. LISTA DE ABREVIATURAS

CCEFEM - Conselho do Colégio de Especialidade em Farmácia Hospitalar

CHUC - Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

DCI - Denominação Comum Internacional

E.P.E. - Entidade Pública Empresarial

HG - Hospital Geral

HUC - Hospital da Universidade de Coimbra

MICF - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

PU - Processo Único

SF - Serviços Farmacêuticos

SGIM - Sistema de Gestão Integrada do Circuito do Medicamento

SWOT - *Strengths, Weaknesses, Opportunities e Threats*

TDT - Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica

UMIV - Unidade de Misturas Intravenosas

UPC - Unidade de Preparação de Citotóxicos

### I. Introdução

Inerente à multidisciplinaridade e polivalência descritiva da vasta área das Ciências Farmacêuticas, a Farmácia Hospitalar assume-se, particularmente a nível pessoal, enquanto uma vertente de elevado destaque, interesse e preponderância no atual panorama da saúde pública. Neste sentido, a focalização de parte do período de estágio neste setor, constituiu uma oportunidade, por excelência, de promoção do contacto com uma nova realidade profissional e uma possibilidade inestimável de enriquecimento da minha formação académica.

O estágio curricular decorreu no Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, EPE, (CHUC), entre o dia 8 de janeiro e 28 de fevereiro, sob a orientação da Dr.<sup>a</sup> Marília Rocha.

O CHUC resultou da fusão de várias unidades hospitalares, que têm como principal missão a prestação de cuidados de saúde de elevada qualidade e que se distinguem como uma referência, nacional e internacional, nas mais diversas áreas (CHUC EPE, 2016). Motivo pelo qual a realização do meu estágio, nesta instituição de renome e de eleição, demonstrou ser fulcral e fundamental para a valorização do meu percurso académico, representando um período de enriquecimento pessoal e, essencialmente, profissional graças a todos os conhecimentos, capacidades e valores apreendidos.

Durante o estágio, tive contacto com as diferentes áreas que compõem os Serviços Farmacêuticos (SF), o que me permitiu conhecer o circuito do medicamento e a prática de atuação de um farmacêutico a nível hospitalar, a qual é centralizada no doente. O objetivo principal é a melhoria dos resultados através do uso responsável do medicamento e outros produtos farmacêuticos (**Anexo I e 2**).

O presente relatório, elaborado sob a forma de análise SWOT, incide de forma sucinta sobre todas as atividades realizadas ao longo do estágio e, inclui informações que considere terem sido relevantes para a minha aprendizagem.

### 2. Farmácia Hospitalar

#### 2.1. Atividade Farmacêutica

A prestação de cuidados de saúde, no âmbito dos produtos farmacêuticos, é uma das principais premissas que regem a conduta do farmacêutico hospitalar, assegurando que o medicamento certo é disponibilizado ao doente a que se destina, no momento certo (COLÉGIO DE ESPECIALIDADE DE FARMÁCIA HOSPITALAR, 2018).

De entre as principais funções que são da responsabilidade de um farmacêutico hospitalar destacam-se:

-A aquisição de medicamentos, produtos farmacêuticos e dispositivos médicos, incluindo aqueles que se destinem a ser utilizados nos ensaios clínicos;

- Preparação e manipulação de medicamentos, incluindo radiofármacos;
- Distribuição de medicamentos e controlo do seu circuito no hospital (distribuição pelas enfermarias, prazos de validade e condições de armazenamento);
- Análise e controlo de qualidade de matérias-primas e produtos acabados;
- Participação em equipas multidisciplinares de saúde;
- Participação em comissões técnicas (Comissão de Farmácia e Terapêutica, Comissão de Ética para a Investigação Clínica e outras) (BROU *et al.*, 2005).

A intervenção do farmacêutico a nível hospitalar é uma intervenção baseada na evidência e orientada para o doente, garantindo o acompanhamento da terapêutica, aconselhamento e orientação aliados à racionalização do uso do medicamento.

### 2.2. Serviços Farmacêuticos

O decreto-Lei n.º 44 204, de 2 de fevereiro de 1962, que regula a atividade farmacêutica hospitalar, define os SF como o conjunto de atividades farmacêuticas exercidas em organismos hospitalares ou serviços a eles ligados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1962).

Em cada hospital, a localização e o espaço físico ocupados pelos SF devem garantir a sua autonomia técnica, sem prejuízo da ligação aos serviços clínicos e de enfermagem, garantindo assim que estes funcionem como serviços de apoio clínico (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1962).

Aos SF compete assegurar a gestão dos medicamentos e produtos de saúde, desde a sua aquisição até estes serem administrados ao doente, garantindo simultaneamente a qualidade e segurança de todos os processos inerentes a esse circuito, com o objetivo de otimizar os resultados desejados em saúde (COLÉGIO DE ESPECIALIDADE DE FARMÁCIA HOSPITALAR, 2018).

A monitorização e racionalização do uso do medicamento são também responsabilidades do farmacêutico hospitalar, que deve garantir a melhoria contínua dos cuidados prestados ao doente, sendo para isso fulcral uma abordagem multidisciplinar que inclua todos os profissionais da área da saúde (COLÉGIO DE ESPECIALIDADE DE FARMÁCIA HOSPITALAR, 2018).

A organização dos SF deve assegurar as seguintes áreas funcionais: Gestão e Organização dos Serviços Farmacêuticos, Comissões Técnicas, Aprovisionamento, Informação de Medicamentos, Farmacotecnia e Controlo Analítico, Distribuição, Ensaios Clínicos, Cuidados Farmacêuticos e Auditoria.

O meu estágio contemplou a presença em dois setores: Distribuição e Farmacotecnia.

### 3. Análise Swot do Estágio em Farmácia Hospitalar

A análise SWOT é uma ferramenta que permite fazer uma análise interna (pontos fortes e pontos fracos) e uma análise externa (oportunidades e ameaças) e, simultaneamente, (auto) avaliar todas as atividades que foram desenvolvidas durante o período de estágio, de forma sucinta e objetiva.

#### S

- Orientação e facilidade de integração no estágio
- Autonomia na cedência de medicamentos em regime de ambulatório
- Atendimento de hemoderivados
- Contacto com preparações de administração intravenosa
- Estágio na radiofarmácia
- Protocolos de quimioterapia
- Participação na utilização dos sistemas automáticos de distribuição
- Complementaridade com outros profissionais de saúde
- Integração dos conhecimentos teóricos no estágio

#### W

- Conhecimentos pouco explorados
- Impossibilidade de cumprir o plano de estágio

#### O

- Trabalhos de revisão
- Aprofundamento de conhecimentos na área da hipertensão pulmonar
- Contacto com o sistema informático (SGIM)

#### T

- Dificuldade no acesso à carreira de farmacêutico hospitalar
- Áreas pouco exploradas pelo farmacêutico

#### 3.1. Pontos Fortes

##### 3.1.1. Orientação e Facilidade de Integração no Estágio

Foi-nos apresentado no primeiro dia o “Caderno do Estagiário”, do qual constavam as atividades a desenvolver, por setor, durante o período de estágio. Este revelou ser uma ferramenta imprescindível, permitindo o registo das diferentes atividades que iam sendo realizadas pelos estagiários, o que facilitou a integração e adaptação aos diferentes setores.

Durante todo o estágio fui acompanhada por profissionais que me orientaram e integraram da melhor forma que lhes era possível, mostrando-se sempre disponíveis e recetivos às dúvidas que lhes ia colocando, criando um ambiente que me permitiu executar e participar de forma ativa no estágio. Para além da informação essencial para o correto entendimento de todas as atividades que ia desenvolvendo, foi notório o esforço para me fornecerem informações que complementassem a minha formação e, que me permitissem uma aplicação prática e em contexto real dos conhecimentos previamente adquiridos na faculdade.

Esta facilidade de integração nos serviços revelou-se indubitavelmente fulcral para o sucesso da minha aprendizagem e para que, conseguisse ultrapassar as inseguranças iniciais.

### 3.1.2. Autonomia na Cedência de Medicamentos em Regime de Ambulatório

A cedência de medicação em regime de ambulatório permite que o doente inicie ou dê continuidade a um plano terapêutico fora do ambiente hospitalar o que, para além de diminuir os custos associados ao internamento e o risco de infeções nosocomiais, permite melhorar a qualidade de vida (INFARMED, 2012).

No entanto, é necessário que seja feito um acompanhamento por razões de segurança, dado que muitos destes medicamentos apresentam margens terapêuticas estreitas, e por razões económicas, uma vez que são tratamentos de elevado custo para os quais é aplicada uma comparticipação a 100%, se forem dispensados em ambulatório (INFARMED, 2012).

Esta cedência é assegurada pelos SF Hospitalares, que garantem que todo o processo está devidamente harmonizado no que respeita às normas e procedimentos, quanto ao período de cedência de medicação, à informação a ser prestada ao doente e às condições em que se procede ao ato de dispensa.

Pude participar de forma autónoma neste processo, preparando todos os medicamentos prescritos, de acordo com a denominação comum internacional (DCI), dose, formulação e tempo de terapêutica, após validação da respetiva prescrição. A atribuição e realização desta tarefa, com alguma autonomia, facilitou a minha proatividade e fomentou o meu senso crítico e sentido de responsabilidade.

A passagem pelo ambulatório permitiu-me conhecer as patologias que são atendidas, relacioná-las com os respetivos planos terapêuticos e conhecer os trâmites legais associados à sua cedência. Este ponto revelou-se de elevada importância, pois pude contactar com medicamentos de uso exclusivo hospitalar, o que em farmácia comunitária não seria possível.

### 3.1.3. Atendimento de Hemoderivados

Os hemoderivados seguem um sistema especial de distribuição, que determina que estes só podem ser dispensados mediante a apresentação de um impresso oficial, anexo XX, o qual é constituído por duas vias: “via farmácia” e “via serviço”, onde a primeira é arquivada nos SF e a segunda no processo clínico do doente, durante 50 anos, permitindo a sua rastreabilidade (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2000).

O atendimento dos pedidos de hemoderivados é feito na urgência farmacêutica e está a cargo de dois farmacêuticos. Estes medicamentos podem ser cedidos para serviços como o Bloco Operatório Central por reposição de stock, ou seja, têm os hemoderivados em stock e

após administração ao doente é feita a requisição para reposição, ou podem ser distribuídos por doente. É ainda importante referir que quando não administrados, têm que ser revertidos.

Os atos de registo da requisição, distribuição e administração destes medicamentos permite o seu controlo e a rastreabilidade de uma eventual relação entre a sua administração e a deteção de doenças transmitidas através do sangue.

Durante o meu estágio, tive oportunidade de atender os pedidos de hemoderivados e proceder ao preenchimento do anexo XX, de forma tutelada, o que me possibilitou um maior contacto com este grupo de medicamentos, com a legislação que suporta a sua cedência, bem como relacioná-los com as patologias a que se destinam.

### 3.1.4. Contacto com Preparações de Administração Intravenosa

A Unidade de Preparação de Misturas Intravenosas (UMIV) destina-se à preparação de medicamentos (**Anexo 3**) que exigem requisitos especiais de preparação e manipulação, que permitam minimizar os riscos de contaminação microbiológica e de contaminação por partículas e pirogénios. As atividades realizadas e a qualidade exigida para o produto final encontram-se diretamente dependentes dos equipamentos e instalações onde são desempenhadas, de forma a reduzir ao máximo o risco de contaminação (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1992).

Durante o estágio, tive a oportunidade de conhecer a organização geral da unidade, as metodologias e protocolos, assim como as boas práticas de produção, particularmente as normas de assepsia no que diz respeito à lavagem e vestuário adequado (toucas, máscaras, luvas e protetores de sapatos), o que me possibilitou colocar em prática e desempenhar em contexto ativo os cuidados a ter na preparação de injetáveis que foram abordados em diversas unidades curriculares ao longo do plano curricular.

Tive ainda a possibilidade de entrar na sala de manipulação, e assim observar de perto todas as medidas de desinfeção e técnicas de manipulação.

### 3.1.5. Estágio na Radiofarmácia

A radiofarmácia é um sector, inserido no serviço de Medicina Nuclear, dedicado à manipulação e marcação de uma grande variedade de radiofármacos (Myoview<sup>®</sup>, Osteocis<sup>®</sup> e Mertioscan<sup>®</sup>) utilizados para fins de diagnóstico (95%) e terapêutica (5%).

Durante o meu estágio neste sector, foi-me possível conhecer as normas vigentes e os procedimentos da unidade, o que foi facilitado pela existência de procedimentos operativos normalizados, auxiliar na preparação de alguns radiofármacos e participar de forma ativa no controlo de qualidade dos mesmos (**Anexo 4**).

Os conhecimentos adquiridos nesta área revelaram-se de grande importância, uma vez que são pouco abordados ao longo do curso, constituindo assim uma oportunidade de enriquecer a minha formação.

### 3.1.6. Protocolos de Quimioterapia

Ainda incluída no setor da farmacotecnia, está a Unidade de Preparação de Citotóxicos (UPC) que se localiza no edifício de São Jerónimo e que é responsável pela preparação de medicamentos citotóxicos para o tratamento de doentes do Hospital de dia de Oncologia ou doentes em regime de internamento.

Pelas suas características, a preparação de substâncias citotóxicas exige cuidados adicionais de segurança e, à semelhança da UMIV, também na UPC é importante conhecer a organização geral da unidade e as normas de higienização das áreas de laboração, bem como as boas práticas de produção.

Os conhecimentos que adquiri na área da Oncologia foram vastos, principalmente através do contacto com os protocolos de quimioterapia aquando do processo de validação, no qual tive oportunidade de participar ativamente. Foi-me também explicado que, consoante o tipo e sensibilidade do tumor, o doente pode ser proposto para uma quimioterapia com intenção curativa ou paliativa. Em retrospectiva, considereei a minha passagem pela UPC enriquecedora, pois permitiu-me uma aplicação prática de alguns conhecimentos previamente adquiridos, na unidade curricular de Farmácia Hospitalar, relativamente à intervenção farmacêutica no doente oncológico (**Anexo 5**).

Neste edifício, existe também uma sala de ambulatório onde é cedida quimioterapia oral (Vinorelbina) e adjuvantes (antieméticos e antidiarreicos). Este ambulatório respeita as mesmas normas e procedimentos, que referi anteriormente, relativamente ao ato de dispensa, havendo no entanto necessidade de despender mais tempo com cada doente por se tratarem de terapêuticas mais complexas e que exigem mais explicações.

### 3.1.7. Utilização dos Sistemas de Distribuição

No CHUC, o processo de distribuição da medicação é feito com o apoio de equipamentos semiautomáticos (Kardex<sup>®</sup>, Consis<sup>®</sup> e FDS<sup>®</sup>) que permitem a minimização do erro e, consequentemente, maximizar a segurança do doente, rentabilizar o tempo de atendimento e racionalizar os *stocks* (BROU *et al.*, 2005).

Conhecer e participar na utilização destes sistemas era uma das atividades que constava do Caderno de Estagiário e, a qual tive oportunidade de cumprir durante a minha passagem pelo setor da Distribuição. Pude conhecer o seu funcionamento, em particular do Kardex<sup>®</sup>, o

qual tive oportunidade de utilizar aquando da preparação da dose individual diária, sob a supervisão de um técnico.

Tive ainda oportunidade de ir ao Hospital Geral (HG) onde pude conhecer outro sistema semiautomático, o Pyxis<sup>®</sup>, e perceber as vantagens da sua utilização no que diz respeito à exatidão dos *stocks*.

A participação na utilização destes sistemas permitiu-me compreender as vantagens que advêm da sua utilização, principalmente no Hospital da Universidade de Coimbra (HUC) que, sendo um hospital central, apresenta um fluxo de trabalho elevado.

### 3.1.8. Complementaridade com Outros Profissionais de Saúde

O farmacêutico deve estar integrado numa equipa multidisciplinar colaborativa, que assegure uma melhoria contínua dos cuidados de saúde prestados aos doentes.

A nível hospitalar, é notória a estreita relação que existe entre os diferentes profissionais de saúde e a sua importância na promoção do cuidado do doente. Deve haver um envolvimento por parte do farmacêutico com médicos, enfermeiros, técnicos de diagnóstico e terapêutica (TDT) e auxiliares, para que possam trabalhar em equipa em prol do doente.

Durante o meu estágio, foram várias as situações em que pude comprovar a importância deste contacto multidisciplinar, nomeadamente na tomada de decisões terapêuticas, na cedência de informação sobre medicamentos ou, inclusivamente, no controlo e armazenamento dos medicamentos nos serviços (validades e temperatura).

Houve várias oportunidades para estabelecer um diálogo direto com médicos, quer para alertar relativamente a interações medicamentosas graves detetadas aquando da validação de prescrições, quer para esclarecimentos relativos a justificações clínicas.

A integração e comunicação com outros profissionais de saúde permite agilizar todo o circuito do medicamento e assegurar que daí é retirada vantagem para o doente.

### 3.1.9. Integração dos Conhecimentos Teóricos no Estágio

A passagem pelos SF constituiu uma oportunidade de aplicação dos conhecimentos, previamente adquiridos, a atividades concretas em contexto real de trabalho.

Permitiu-me não só, consolidar conhecimentos adquiridos nas unidades curriculares de Farmácia Hospitalar ou Farmacologia, bem como adquirir novos conhecimentos que considero serem úteis para a construção da minha identidade profissional, como por exemplo na área da Radiofarmácia.

### 3.2. Pontos Fracos

#### 3.2.1. Conhecimentos Pouco Explorados

Apesar do plano curricular do MICF ser diversificado e completo denotei, ao longo do estágio, algumas lacunas teóricas, mas sobretudo práticas que acabaram por prejudicar o meu desempenho aquando da realização das atividades relativas ao plano de estágio.

Denotei particularmente na UMIV e na Radiofarmácia conhecimentos pouco aprofundados destas áreas pelo que, apesar de considerar que estes deveriam ser mais explorados a nível curricular, tive durante o estágio a oportunidade de colmatar estas lacunas através da aquisição de novos conhecimentos.

#### 3.2.2. Impossibilidade de Cumprir o Plano de Estágio

O término do meu estágio em FH ocorreu no setor da Farmacotecnia, em particular na UMIV. Porém, devido à rotação de pessoal, encontrava-se neste setor uma colega farmacêutica em formação, o que levou à necessidade de adaptar o meu plano de estágio.

Com este acontecimento pude prolongar o meu estágio no ambulatório do São Jerónimo, o que me permitiu um contacto de maior proximidade com os doentes do Hospital de dia de Oncologia. No entanto, a minha passagem pela UMIV foi mais curta pelo que não tive oportunidade de consolidar todos os conhecimentos adquiridos nesta área, que considerei serem importantes para a minha formação.

### 3.3. Oportunidades

#### 3.3.1. Trabalhos de Revisão

Elaborei, juntamente com as outras estagiárias, e a partir dos critérios de STOPP-START, tabelas com o intuito de serem posteriormente utilizadas como auxiliares do processo de validação. O objetivo é que possam ser utilizadas como ferramentas para a deteção de erros de prescrição e permitam aumentar o rigor da validação.

Tivemos ainda oportunidade de elaborar outro trabalho de revisão intitulado “Regimes de Iniciação e Ajuste de Insulina em Diabetes Tipo 2”, tendo por base uma *guideline* fornecida pela Dra. Marília. Considerei a elaboração e dissertação relativa a este tema relevante para a minha formação e desenvolvimento profissionais, já que é um tema inexplorado e pouco abordado ao longo do percurso académico.

Em acréscimo a toda a pesquisa empreendida no delineamento dos trabalhos propostos, a presença nas diversas apresentações dos colegas e a participação ativa na discussão dos múltiplos temas expostos foi fundamental, tanto no desenvolvimento, como na promoção do meu espírito crítico e pedagógico.

### 3.3.2. Aprimoramento de Conhecimentos na Área da Hipertensão Pulmonar

O facto da Dra. Paula Dinis estar responsável pelos serviços de Cardiologia proporcionou que me familiarizasse, mais particularmente, com esta área aquando da minha passagem pelo ambulatório.

Tive inclusive a oportunidade de contactar com uma patologia que me era até então desconhecida – Hipertensão Arterial Pulmonar (HAP), o que me instigou a pesquisar mais sobre a mesma. Realizei, nesse âmbito, algumas pesquisas sobre as opções terapêuticas disponíveis e as principais diferenças relativas aos efeitos secundários, particularmente a hepatotoxicidade associada ao Bosentano.

### 3.3.3. Contacto com o Sistema Informático (SGIM)

O sistema informático utilizado nos HUC é o Sistema de Gestão Integrada do Circuito do Medicamento (SGIM), o qual tive oportunidade de utilizar de forma autónoma durante o período de estágio.

Este é utilizado ao longo das várias etapas que compõem o circuito do medicamento no meio hospitalar, por exemplo no circuito da distribuição o médico emite a prescrição, que é depois enviada para os SF, onde se efetua a sua receção e validação seguida da distribuição. A nível dos serviços e enfermarias, é feito o registo das administrações e gestão dos stocks.

A cada doente é atribuído um número de processo único (PU), permitindo a rastreabilidade do mesmo, e ao qual ficam guardadas e associadas todas as informações clínicas, que podem facilmente ser consultadas por qualquer profissional de saúde através do SGIM.

A informatização dos procedimentos permite uma redução dos erros e uma maior articulação entre os serviços, na medida em que há uma maior facilidade no acesso à informação e, na globalidade, uma melhoria dos serviços prestados.

O contacto com esta ferramenta constituiu uma oportunidade de adquirir competências informáticas que são atualmente importantes na nossa prática profissional.

## 3.4. Ameaças

### 3.4.1. Dificuldade no Acesso à Carreira de Farmacêutico Hospitalar

O Conselho do Colégio de Especialidade em Farmácia Hospitalar (CCEFH) é o órgão responsável por qualificar os farmacêuticos com o título de especialista em Farmácia Hospitalar. A atribuição desse título pressupõe um processo de avaliação que compreende 3 etapas: avaliação do currículo (5 anos de experiência profissional), exame escrito e exame oral (COLÉGIO DE ESPECIALIDADE DE FARMÁCIA HOSPITALAR, 2015).

No entanto, dada a conjuntura económica atual e os cortes na área da saúde pública, a abertura de novos concursos para recrutar recursos humanos tem estado condicionada e, consequentemente, o acesso à experiência profissional.

Porém, dada a importância do farmacêutico a nível hospitalar, nomeadamente na prestação de cuidados de saúde, no âmbito do medicamento e na gestão do seu circuito, torna-se imperativo defender a valorização e regulamentação da carreira farmacêutica.

### 3.4.2. Áreas Pouco Exploradas Pelo Farmacêutico

O farmacêutico tem um papel fulcral a nível hospitalar, distinguindo-se pelas suas competências e conhecimentos e integrando uma equipa multidisciplinar de profissionais de saúde de diversas áreas.

No entanto, existem algumas áreas que sendo da competência do farmacêutico não estão devidamente exploradas, o que constitui uma ameaça, no sentido em que a conjuntura atual obriga a que o farmacêutico não se limite a conhecer o medicamento mas se foque, igualmente, na melhoria dos *outcomes* aliados à racionalização do uso do medicamento.

O farmacêutico deve intervir e garantir a sua presença em áreas como os cuidados farmacêuticos, nomeadamente farmacocinética, com vista à melhoria da qualidade de vida do doente e deve adotar mecanismos de simplificação e agilização processual, que permitam uma maior rentabilização do tempo e recursos.

## 4. Conclusão

O estágio curricular realizado nos SF dos HUC revelou-se uma experiência enriquecedora para a construção da minha identidade profissional e pessoal, por me possibilitar conhecer uma nova área farmacêutica.

Por constituir o primeiro contacto com o mercado de trabalho, permitiu-me a aplicação prática dos conhecimentos previamente adquiridos e a captação de novos conhecimentos, colmatando algumas lacunas. Também as relações interpessoais foram enriquecidas, o que em muito facilitou a minha integração e o processo de aprendizagem, e me permitiu ultrapassar as minhas inseguranças.

Este estágio permitiu-me, igualmente, compreender o circuito do medicamento e a importância do farmacêutico a nível hospitalar, enquanto profissional responsável por coordenar o uso responsável do medicamento.

Para concluir, é pertinente referir que o futuro se revela um constante desafio, ao qual o farmacêutico se deve adaptar, distinguindo-se pelas suas competências e reforçando a sua presença e intervenção no meio hospitalar.

## 5. Referências Bibliográficas

BROU, M. H. L.; FEIO, J. A. L.; MESQUITA, E.; RIBEIRO, R. M. P. F.; BRITO, M. C. M.; CRAVO, C.; PINHEIRO, E. - **Manual da Farmácia Hospitalar**. Lisboa: março de 2005. ISBN 972-8425-63-5. [Acedido a 5 de fevereiro de 2018]. Disponível na internet: <http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/manual.pdf/a8395577-fb6a-4a48-b295-6905ac60ec6c>

CHUC, EPE - **Missão, Visão e Valores**. Coimbra: STSI, 2016. [Acedido a 17 de fevereiro de 2018]. Disponível na internet: <http://www.chuc.min-saude.pt/paginas/centro-hospitalar/missao-visao-e-valores.php>

COLÉGIO DE ESPECIALIDADE DE FARMÁCIA HOSPITALAR - **Manual de Boas Práticas de Farmácia Hospitalar, Capítulo I: Processos de Suporte**. Lisboa: Ordem dos Farmacêuticos, fevereiro de 2018. [Acedido a 10 de março de 2018]. Disponível na internet: [https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/publicacoes/mbpvh\\_capitulo\\_i\\_vfinal\\_17815111995a8eee5ad0c17.pdf](https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/publicacoes/mbpvh_capitulo_i_vfinal_17815111995a8eee5ad0c17.pdf)

COLÉGIO DE ESPECIALIDADE DE FARMÁCIA HOSPITALAR - **Normas para Atribuição do Título de Especialista de Farmácia Hospitalar**. Lisboa: Ordem dos Farmacêuticos, Abril de 2015. [Acedido a 02 de fevereiro de 2018]. Disponível na internet: [https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/editor2/Colegios\\_de\\_Especialidade/Titulo\\_Especialidade/Especialidade\\_FH/Normas\\_Especialista\\_em\\_Farmacia\\_Hospitalar.pdf](https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/editor2/Colegios_de_Especialidade/Titulo_Especialidade/Especialidade_FH/Normas_Especialista_em_Farmacia_Hospitalar.pdf)

INFARMED - **Circular Normativa: Procedimentos de cedência de medicamentos no ambulatório hospitalar**. Lisboa, novembro 2012. [Acedido a 29 de janeiro de 2018]. Disponível na internet: <http://www.infarmed.pt/documents/15786/1154797/Procedimentos+de+ced%C3%Aancia+de+medicamentos+no+ambulat%C3%B3rio+hospitalar/f82c9f45-6f63-47c2-900d-1f5dbff74765?version=1.2>

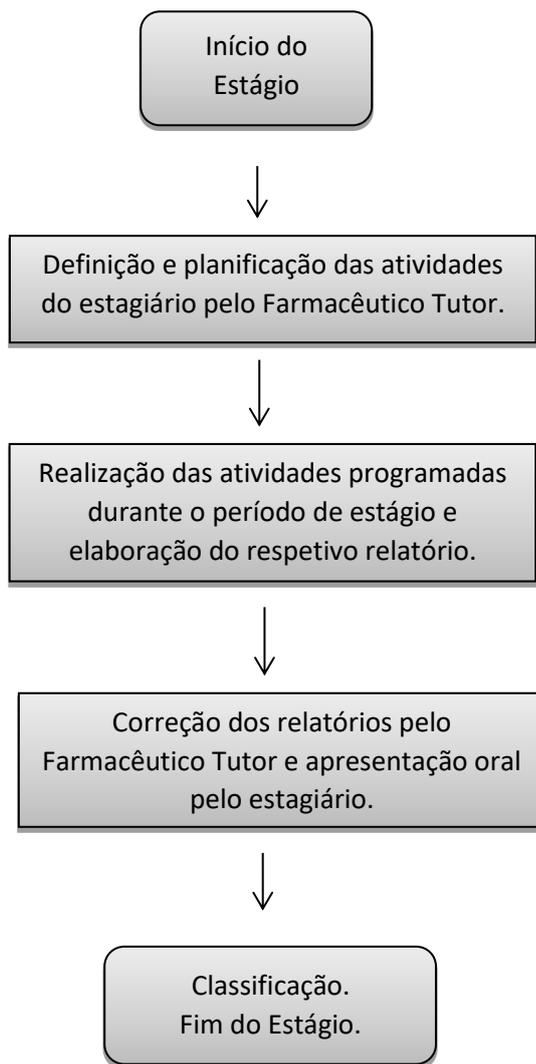
MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Decreto-Lei nº 44 204, de 2 de fevereiro de 1962**. Diário da República. nº 40 – 1ª série (1962).

MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Despacho conjunto nº 1051/2000 de 14 de setembro – Registo de Medicamentos derivados do plasma, de 30 de outubro de 2000**. Diário da República. nº 251 – 2ª série (2000), 939–940.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Portaria nº 42/92, de 23 de janeiro - Guia para o Bom Fabrico de Medicamentos**. Diário da República. nº 19 – série I-B (1992), 458–491.

6. Anexos

Anexo I - Cronograma do Estágio



Anexo 2 - Planificação das Atividades

Área	Pólo	Data Início	Data Fim	Responsável
1. Farmacotecnia e Controlo Analítico	HUC	5-Fev-2018	28-Fev-2018	Dra. Adelaide Abreu
2. Distribuição	HUC	8-Jan-2018	2-Fev-2018	Dr. Sebastião Silva

**Anexo 3 - Avaliação da Preparação na UMIV**

<b>Fármaco</b>	<b>Infliximab</b>
<b>Dose/ Frequência / Via de administração</b>	<p>100 mg</p> <p>Perfusão lenta de 2h, toma única de acordo com o protocolo de cada indicação terapêutica.</p> <p>A dose recomendada é de 20 mg/kg de peso corporal, administrada uma vez de 2 em 2 semanas.</p> <p>As perfusões devem ser administradas gradualmente começando com um ritmo inicial de 1 mg/kg/h e que aumenta para 2 mg/kg/h a cada 30 minutos até um máximo de 7 mg/kg/h.</p>
<b>Indicação</b>	<p>Artrite reumatoide;</p> <p>Doença de Crohn em adultos e pediátrica;</p> <p>Colite ulcerosa;</p> <p>Espondilite anquilosante;</p> <p>Artrite psoriática;</p> <p>Psoríase.</p>
<b>Mecanismo de Ação</b>	<p>Infliximab é um anticorpo monoclonal quimérico homem-murino que se liga com uma elevada afinidade tanto à forma solúvel como transmembranar do TNF<math>\alpha</math>, mas não à linfotoxina <math>\alpha</math> (TNF<math>\beta</math>).</p>
<b>Componentes</b>	<p>Infliximab</p> <p>Excipientes</p> <p>NaCl 0,9 mg/ml</p>
<b>Lote</b>	HAM9101104
<b>Técnica de controlo</b>	<p>Características organoléticas: solução incolor a amarelo claro e opalescente</p>
<b>Conservação e Validade</b>	<p>Solução diluída para perfusão: 3h temperatura ambiente</p> <p>Solução reconstituída: 24h a 2-8°C</p>

**Anexo 4 - Avaliação da Preparação em Radiofarmácia**

Fármaco	<p style="text-align: center;"><b>Myoview®</b> <b>(Tecnécio (99mTc) tetrofosmina)</b></p>
<b>Dose/ Frequência / Via de administração</b>	<p>230 mg</p> <p>Atividade administrada por doente: cerca de 14 mCi/518 MBq na primeira administração (primeira parte do exame, geralmente correspondente ao esforço) e cerca de 30 mCi/1110 MBq (na segunda parte do exame, geralmente correspondente ao repouso)</p> <p>Intravenosa</p>
<b>Indicação</b>	<p>Estudos de perfusão do miocárdio, utilizado como diagnóstico e localização da isquémia e/ou enfarte do miocárdio</p>
<b>Componentes</b>	<p>Cloreto estanoso dihidratado</p> <p>Sulfossilicilato dissódico</p> <p>D-gluconato de sódio</p> <p>Bicarbonato de sódio</p> <p>Azoto</p>
<b>Lote</b>	<p>73891800</p>
<b>Técnica de controlo</b>	<p>A qualidade de marcação (pureza radioquímica) pode ser verificada através do método de cromatografia em camada fina</p>
<b>Conservação e Validade</b>	<p>Conservação do kit: entre 2°C e 8°C</p> <p>Conservação do produto marcado: entre 2°C e 8°C</p> <p>Prazo de validade do kit: 35 semanas após a data de fabrico</p> <p>Prazo de validade do produto marcada: 12 horas após marcação</p>

Anexo 5 - Avaliação da Preparação na UPC

Fármaco	Trastuzumab 120 mg/ml
<b>Dose/ Frequência / Via de administração</b>	600 mg Quando administrado por injeção subcutânea, a dose recomendada são 600 mg administrados ao longo de 2 a 5 minutos, a cada três semanas Subcutâneo
<b>Indicação</b>	<b>Várias indicações, no âmbito do foro oncológico em associação ou monoterapia:</b> -Tratamento de doentes adultos com cancro da mama metastizado HER2 positivo; -Tratamento de doentes adultos com cancro da mama HER2 positivo em estadios precoces; (Nota: O fármaco só pode ser utilizado após ser demonstrada a sobre-expressão do HER2)
<b>Mecanismo de ação</b>	O trastuzumab é um anticorpo monoclonal que se liga com elevada afinidade e especificidade ao sub-domínio IV do HER2. Essa ligação inibe a sinalização independente de ligando do HER2 e previne a clivagem proteolítica do seu domínio extracelular, resultando na inibição da proliferação de células tumorais humanas com sobre-expressão do HER2.
<b>Componentes</b>	-Hialuronidase humana recombinante -L-histidina -Cloridrato de L-histidina monohidratado - $\alpha,\alpha$ -trealose, di-hidratada -L- metionina -Polissorbato 20 -Água para preparações injetáveis
<b>Lote</b>	B1048B08
<b>Técnica de controlo</b>	Controlo Volumétrico e inspeção visual da preparação
<b>Conservação e Validade</b>	O trastuzumab deve ser conservado no frigorífico (2-8°C) ao abrigo da luz. Uma vez retirada do frigorífico, a formulação subcutânea deve ser administrada no espaço de <b>6 horas</b> e não deverá ser mantida a uma temperatura superior a 30 °C. Após preparação deve ser imediatamente administrado, no hospital de dia, por questões do ponto de vista microbiológico, apresentando uma estabilidade de 48 horas a 2 e 8°C

# **Capítulo II**

## **Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária**

Farmácia Nova de Águeda

Orientadora: Doutora Rosa Maria da Cruz Cerveira

**I. LISTA DE ABREVIATURAS**

ANF - Associação Nacional de Farmácias

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

MICF - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

PIM - Preparação Individualizada da Medicação

SWOT - *Strengths, Weaknesses, Opportunities e Threats*

### I. Introdução

O estágio curricular posiciona-se como o culminar de cinco anos de uma abrangente formação teórica e prática, adquirida no Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), revestindo-se de extrema importância por constituir o primeiro contacto com o mercado de trabalho.

A Farmácia Comunitária é, por lhe ser reconhecida a proximidade, o primeiro local a que os portugueses recorrem por questões de saúde. O papel do farmacêutico releva-se, por isso, de extrema importância, enquanto responsável por garantir a acessibilidade ao medicamento e a equidade na prestação de cuidados de saúde a todos os cidadãos (ORDEM DOS FARMACÊUTICOS, 2018).

O farmacêutico comunitário garante a dispensa e aconselhamento sobre o correto uso do medicamento, gestão da terapêutica, determinação de parâmetros bioquímicos e a promoção da saúde junto da população, presando-se por uma elevada dedicação e competência profissional, valores esses que me foram transmitidos ao longo do estágio (SANTOS *et al.*, 2009).

Durante os meses de março a junho, tive a oportunidade de integrar a equipa técnica da Farmácia Nova de Águeda, que exerce funções sob a Direção Técnica da Dra. Rosa Cerveira. Ao longo deste período de estágio, as tarefas desenvolvidas proporcionaram-me um processo de aprendizagem contínuo que me permitiu, igualmente, desenvolver, aplicar e consolidar conhecimentos previamente adquiridos.

### 2. Farmácia Nova de Águeda

A Farmácia Nova abriu portas no ano de 1948 em Sangalhos, tendo transferido as suas instalações para Águeda, ao abrigo de um concurso instaurado pelo INFARMED, IP, em 2009.

O seu horário de funcionamento compreende o período das 9h até as 20h nos dias úteis e das 9h até às 13h ao sábado.

A propriedade e direção técnica da Farmácia Nova de Águeda é assumida pela Dra. Rosa Cerveira, sendo esta coadjuvada por farmacêuticas, técnicos de farmácia e por pessoal devidamente habilitado, sob a sua direção e responsabilidade. A restante equipa técnica é constituída pelo quadro farmacêutico – Dra. Maria Inês Almeida (adjunta), Dra. Mafalda Gala e Dra. Carina Albuquerque – e pelo quadro não farmacêutico – Sandra Costa e Alexandre Marques (técnicos de Farmácia).

A missão da Farmácia é servir a comunidade em que está inserida, disponibilizando um vasto conjunto de serviços farmacêuticos e dispondo de uma equipa focada na satisfação dos utentes.

### 3. Análise Swot do Estágio em Farmácia Comunitária

As atividades desenvolvidas durante o período de estágio são de seguida elencadas sob a forma de uma análise SWOT. Esta análise é uma ferramenta de gestão que tem como objetivo definir os pontos fortes (*Strengths*) e fracos (*Weaknesses*) do estágio, as oportunidades (*Opportunities*) a potencializar e as ameaças (*Threats*) a eliminar.

Esta análise estratégica proporciona realizar uma reflexão abrangente e personalizada. Por conseguinte, tornou-se praticável avaliar o meu desempenho em contexto de farmácia comunitária e delinear as prioridades de atuação.

#### S

- Acolhimento e facilidade de integração no estágio
- Localização da farmácia e público-alvo
- Orientação faseada do estágio
- Autonomia na realização das tarefas
- Indicação farmacêutica
- Prestação de serviços farmacêuticos
- Trabalho de pesquisa

#### W

- Conhecimentos pouco abordados no MIFC respeitantes a dermocosmética e veterinária
- Preparação de medicamentos manipulados

#### O

- Participação em formações
- Metodologia *Kaizen*
- Participação na feira da saúde

#### T

- Medicamentos esgotados
- Proximidade de locais de venda de MNSRM
- Conjuntura económica atual

#### 3.1. Pontos Fortes

##### 3.1.1. Acolhimento e Facilidade de Integração no Estágio

Durante o estágio, fui acompanhada por uma equipa de profissionais altamente qualificados, dotados de competências técnicas e humanas, características estas que se revelaram fulcrais para a minha integração.

O acolhimento dado por toda a equipa, no ambiente de trabalho diário, foi de extrema importância, tendo sendo este um período de elevada intensidade de aprendizagem. Assim, o estágio ofereceu-me a possibilidade de adquirir novos conhecimentos, teóricos e técnicos, numa constante articulação entre a formação teórica prévia e a experiência prática, sob a supervisão de profissionais de excelência.

Um dos pontos fortes foi, indubitavelmente, a integração numa equipa jovem e dinâmica, diariamente motivada e empenhada na melhoria contínua, o que fomentou a minha aprendizagem e proatividade, permitindo-me, apesar das inseguranças iniciais, uma maior confiança, autonomia e determinação na realização das mais variadas tarefas.

### 3.1.2. Localização da Farmácia e Público-Alvo

A Farmácia Nova localiza-se na Rua Joaquim Valente Almeida, nº 261. Trata-se de uma localização privilegiada, situando-se numa zona residencial e simultaneamente de passagem, próxima do Centro de Saúde e do Hospital Distrital de Águeda.

A presente localização da Farmácia proporciona o seu alcance a um público-alvo diferenciado. Por conseguinte, o leque de utentes estende-se desde utentes que, pontualmente, visitam a Farmácia, a utentes fidelizados. Além de manterem uma estreita relação com a equipa técnica, os utentes fidelizados frequentam a farmácia desde a sua abertura, contribuindo para a sua subsistência e continuidade. Em acréscimo, a sua proximidade geográfica a uma escola secundária possibilita o contacto com um público juvenil com exigências distintas e necessidades diversas.

Na minha perspetiva, esta situação possibilitou o contacto com um público vasto e variado, pertencente a diferentes extratos socioeconómicos, o que constituiu uma mais-valia, uma vez que me permitiu compreender como adequar a minha postura e linguagem a cada utente nas situações de atendimento, antevendo um processo comunicativo mais eficaz.

### 3.1.3. Orientação Faseada do Estágio

Os quatro meses de estágio decorridos na Farmácia Nova consignaram-se a uma orientação faseada que, por sua vez, obedece a uma distribuição lógica e sequencial. Deste modo, perspetiva-se que o estagiário compreenda o modo de funcionamento da farmácia e a dinâmica associada, privilegiando a sua adaptação mais rápida e fácil a este ambiente.

A elaboração deste plano proporciona que o estagiário efetue todas as tarefas inerentes ao funcionamento adequado da farmácia. Uma vez que as responsabilidades do profissional farmacêutico não se cingem somente ao atendimento ao público, é fundamental saber conciliar as inúmeras responsabilidades na farmácia, de forma a garantir a plena gestão da mesma.

Durante as primeiras semanas, a receção de encomendas e aprovisionamento permitiu-me inteirar dos produtos existentes no stock da Farmácia, bem como a familiarização com os nomes comerciais dos medicamentos e fazer a associação com o respetivo princípio ativo. Pude, igualmente, assimilar os locais de arrumação das diversas existências da farmácia, o que facilitou posteriormente o atendimento ao público.

No que respeita ao aprovisionamento, tive oportunidade de contactar com a dinâmica da gestão de encomendas, o que me permitiu distinguir quanto ao tipo de encomendas que diariamente podem ser efetuadas, quais os fornecedores e horários de entrega e sobretudo como fazer uma correta gestão do *stock*.

Posteriormente, iniciei o atendimento ao público, naquela que se revelou a fase mais desafiante e enriquecedora do estágio. Comecei por ser supervisionada por um dos membros da equipa técnica, que me ia auxiliando e prestando os esclarecimentos devidos, o que se revelou particularmente importante na utilização do módulo de atendimento do Sifarma®. Progressivamente fui ganhando autonomia e autoconfiança, que me permitiram colocar em prática todos os conhecimentos adquiridos ao longo da vasta formação que o MICF proporciona.

### 3.1.4. Autonomia na Realização das Tarefas

Tal como já referi, ao longo do estágio, fui acompanhada por uma equipa dedicada na promoção da minha integração e acompanhamento, mostrando-se sempre recetiva a quaisquer dúvidas e inseguranças que ia demonstrando.

Não obstante a toda orientação e auxílio prestados, num dado momento do estágio, foi-me proporcionada alguma independência e autonomia na realização das principais tarefas que diariamente eram desenvolvidas na farmácia. A confiança, que me foi delegada por toda a equipa, foi também fulcral para o meu crescimento profissional.

Para além de todas as tarefas inerentes à gestão interna da farmácia, a Farmácia Nova promove a autonomia dos seus estagiários ao proporcionar-lhes a oportunidade de participar na idealização e desenvolvimento de diversas atividades, designadamente, a organização dos lineares, campanhas publicitárias e desenvolvimento de rastreios gratuitos direcionados aos utentes da farmácia.

### 3.1.5. Indicação Farmacêutica

A indicação farmacêutica é o ato pelo qual o farmacêutico assume a responsabilidade no aconselhamento de um medicamento não sujeito a receita médica (MNSRM), imprescindível para a prevenção ou restabelecimento do estado de saúde. A qualidade do atendimento e aconselhamento deve ser tida em conta, com vista a garantir a confiabilidade do utente pelos seus serviços, pois o farmacêutico possui um conjunto de conhecimentos técnico-científicos que lhe conferem aptidão para saber reconhecer as situações que não se tratam de transtornos menores e, em que, há a necessidade de encaminhamento do utente para consulta médica (SANTOS *et al.*, 2009).

Foram várias as situações em que me foi solicitado um aconselhamento para o tratamento de um problema de saúde, considerado como uma afeção menor. Nestas circunstâncias, tentei sempre recolher o máximo de informação possível sobre o doente, nomeadamente sobre os sintomas que apresentava e a sua persistência, bem como a existência de outras patologias concomitantes, permitindo-me assim uma intervenção segura e eficaz (**Anexo I**).

Aquando de um aconselhamento, existem linhas orientadoras que devemos seguir, por forma a intervir eficazmente, aconselhando e acompanhando o doente através das medidas consideradas mais adequadas. Deste modo, foram-me apresentados, no início do estágio, Fluxogramas de Indicação Farmacêutica (**Anexo 2**), disponíveis no *site* da Associação Nacional de Farmácias (ANF), que se revelaram um grande suporte durante o estágio.

### 3.1.6. Prestação de Serviços Farmacêuticos

A Farmácia Nova disponibiliza um vasto conjunto de serviços farmacêuticos de promoção da saúde e do bem-estar dos utentes, de onde se destacam: a determinação de parâmetros bioquímicos e fisiológicos, administração de medicamentos, consultas de nutrição e podologia e, mais recentemente, preparação individualizada de medicamentos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

Estas avaliações aliam-se de um cariz extremamente vantajoso para o utente. Para além de permitirem o controlo regular de certos parâmetros bioquímicos, proporcionam, simultaneamente, uma observação e um aconselhamento personalizado prestados pelo farmacêutico.

Tive a oportunidade de executar de forma autónoma a determinação de vários parâmetros bioquímicos e fisiológicos. De forma a garantir uma maior comodidade e privacidade, tais serviços são realizados no Gabinete de Boas Práticas, onde é possível estabelecer um diálogo com o utente a fim de discutir os resultados obtidos, garantindo o acompanhamento e intervenção na melhoria da qualidade de vida e recomendando a adoção de medidas não farmacológicas adequadas a cada caso específico.

Recentemente, a Farmácia Nova apostou na implementação de um novo serviço – a preparação individualizada da medicação (PIM), que surge da necessidade de auxiliar os doentes a tomarem corretamente a medicação, o que se releva de particular interesse em doentes idosos e polimedicados.

A PIM consiste no reacondicionamento dos medicamentos, num dispositivo selado e descartável, em função do momento em que devem ser administrados ao longo do dia e em função das necessidades de cada utente. Este serviço evita erros na administração, o que permite melhorar a eficácia da terapêutica e, portanto, o bem-estar e qualidade de vida.

Adicionalmente, potencia o papel do farmacêutico por se tratar de um serviço diferenciador, orientado para o doente, reforçando a integração da Farmácia como elo fundamental no sistema nacional de saúde (VENALINK, 2018).

### 3.1.7. Trabalho de Pesquisa

Ao longo do estágio, foi-me proposta a realização de um trabalho de pesquisa sobre “Ostomias na Farmácia”, em conjunto com a minha colega estagiária (**Anexo 3**).

Com as alterações no acesso aos dispositivos de ostomia, aumentou a frequência da sua procura nas farmácias comunitárias. Desde abril de 2017, que mediante receita médica, estes produtos podem ser dispensados com uma comparticipação de 100%, tornando o acesso aos mesmos mais fácil e cómodo (FARMÁCIAS PORTUGUESAS, 2018).

Face a essa procura, torna-se imprescindível para o farmacêutico conhecer todo o enquadramento legal nesta área, bem como toda a informação relativa às características da ostomia, aplicação dos dispositivos e cuidados a ter.

Nesse âmbito realizámos um pequeno trabalho de pesquisa, que foi depois exposto para toda a equipa da Farmácia Nova. Este tinha, por objetivo, explorar um tema sobre o qual não possuíamos muitos conhecimentos, e com o qual acabaríamos por contactar, o que se revelou um tema relevante para a minha formação, permitindo-me prestar um esclarecimento rigoroso aos doentes ostomizados e, simultaneamente, eliminar o estigma que existe sobre este tema. Toda a temática desenvolvida possibilitou um apoio mais exclusivo e intrínseco não apenas ao doente, mas igualmente ao cuidador.

## 3.2. **Pontos Fracos**

### 3.2.1. Conhecimentos Pouco Explorados no MICE

O vasto plano curricular do MICE proporciona um rol de competências e conhecimentos diversificados e abrangentes. Todavia, no decorrer do meu período de estágio, denotei, esporadicamente, certas lacunas, de índole teórica, que constituíram um obstáculo ao máximo desempenho aquando da realização de aconselhamentos respeitantes a dermocosmética e veterinária.

No que respeita à dermocosmética, a principal barreira resulta da grande variedade de produtos de que a farmácia dispõe e na dificuldade em os posicionar, de acordo com as respetivas necessidades dos utentes. No entanto, tive durante o estágio a oportunidade de aprimorar estes conhecimentos, quer através da experiência inestimável que me era transmitida por toda a equipa, quer nas várias formações que iam tendo lugar na farmácia. No que à área veterinária concerne, e sendo uma área com crescente expressão, é fulcral apostar

numa maior formação para disponibilizar ao utente um atendimento diferenciado e especializado.

Considero que, deste modo, o contacto com estes produtos foi uma mais-valia, permitindo-me aprofundar e reforçar os conhecimentos nesta área e fornecer um aconselhamento mais completo e adequado, face às necessidades dos utentes.

### 3.2.2. Preparação de Medicamentos Manipulados

Com o intuito de criar um padrão elevado de qualidade, ao preparar um medicamento manipulado, o farmacêutico deve assegurar-se da qualidade da preparação, cumprindo para o efeito as boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados em farmácia de oficina (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004).

Considerarei que a preparação de manipulados é atualmente um dos pontos fracos da Farmácia que, apesar de possuir nas suas instalações um laboratório destinado à sua preparação, opta na maior parte dos casos por recorrer a outras farmácias para a sua obtenção. Tal situação ocorre, essencialmente, pela escassa afluência de prescrições, por questões de rentabilidade de recursos, matérias-primas e economia de tempo.

Porém, durante o estágio, tive a oportunidade de realizar a preparação de alguns manipulados mais simples, destinados sobretudo a dermatologia. Durante a preparação destes medicamentos, foram-me prestados todos os esclarecimentos necessários para a sua correta execução, nomeadamente os métodos laboratoriais empregues, seguindo sempre as fichas de preparação como orientação.

Sempre que se inicia a preparação de um manipulado é criada uma nova ficha de preparação, de onde consta, entre outros, a quantidade de substância ativa, a forma farmacêutica, o número de lote, a embalagem onde se acondiciona, o prazo de utilização e as condições de conservação.

Considero que, ainda que diminutas, as oportunidades que tive de poder cooperar na elaboração de medicamentos manipulados se revelaram muito enriquecedoras, permitindo-me a consolidação de conhecimentos adquiridos ao longo do curso, particularmente nas unidades curriculares de Tecnologia Farmacêutica e Farmácia Galénica.

## **3.3. Oportunidades**

### 3.3.1. Participação em Formações

A aprendizagem e formação continuada constituem não só uma necessidade, mas também uma obrigação profissional, garantindo ao farmacêutico uma formação atualizada para as

tarefas que desempenha, assim como, um nível de competência adequado (SANTOS *et al.*, 2009).

No decorrer do meu estágio, tive a oportunidade de participar em diversas formações promovidas pelos delegados de informação médica que, com alguma frequência, visitavam a Farmácia. Estas formações foram, na sua maioria, realizadas em horário pós-laboral e incidiam sobretudo na apresentação de novos produtos e campanhas promocionais.

Os assuntos abordados foram bastante distintos, destacando-se alguns exemplos como produtos dietéticos, material de penso e ortóteses. Na extensa área da dermocosmética assisti a formações das marcas Uriage, Lierac, ISDIN e Esthederm, que me permitiram explorar a gama de produtos comercializados, características distintivas e público-alvo a que se destinam.

Durante o período de estágio, foi-me possível conjugar a aquisição de inúmeros conhecimentos, em ambiente comunitário, com a consolidação de outros já adquiridos no âmbito das diversas unidades curriculares do MICE. O contacto permanente com informação atualizada e o esclarecimento direto de dúvidas pontuais constituíram as vantagens mais significativas das formações a que atendi. Estas formações representaram, indubitavelmente, um suporte importante para o adequado aconselhamento do utente.

### 3.3.2. Metodologia Kaizen

A farmácia encontra-se envolvida numa metodologia *Kaizen*. De origem japonesa, a palavra *Kaizen* significa melhoria contínua (KAI = Mudar e ZEN = Melhor) e defende que grandes resultados vêm de muitas pequenas mudanças, acumuladas ao longo do tempo (KAIZEN, 2018).

No contexto de uma empresa, as práticas *Kaizen* permitem que haja redução de custos e aumento de produtividade. Tal ocorre a partir do pressuposto de que as pessoas podem melhorar continuamente no desenvolvimento das suas atividades.

O trabalho coletivo deve prevalecer sobre o individual, onde o trabalhador deve ser incentivado a direcionar o seu trabalho para as metas propostas para a empresa. Na Farmácia, o processo de melhoria contínua está intimamente associado ao espírito de equipa. Isto implica a valorização da comunicação, envolvimento de todos os colaboradores e aperfeiçoamento dos processos.

Desta forma, durante o meu período de estágio, tive a oportunidade de observar parte do processo. Semanalmente, são desenvolvidas pequenas reuniões com o objetivo de monitorizar as metas definidas (análise de indicadores), analisar campanhas em vigor, avaliar sugestões de melhoria, analisar as tarefas do ciclo PDCA (**P**lan – **D**o – **C**heck – **A**ct), entre outros.

### 3.3.3. Participação na Feira da Saúde

Pelo quinto ano consecutivo realizou-se a Feira da Saúde, organizada pela autarquia com o apoio do Centro de Saúde de Águeda. Dedicada ao público em geral, a Feira da Saúde integra vários expositores, a realização de avaliações e rastreios, palestras, *workshops* e uma caminhada/ corrida contra o cancro, como forma de promoção de estilos de vida saudáveis e de sensibilizar a população para a importância da prevenção do cancro.

Em semelhança a anos anteriores e antevendo o sucesso e elevada adesão a iniciativas desta índole, a Farmácia Nova ofereceu, a todos os seus visitantes, a possibilidade de realizarem a respetiva avaliação da sua glicémia. Após decorrido o rastreio, impunha-se a interpretação e realização do aconselhamento adequado, atendendo, quando possível e aplicável, à comparação do valor medido com valores anteriormente registados e integrando esta informação com o historial clínico e medicamentoso do doente.

Para além de gratificante, reconheço que esta experiência permitiu-me desenvolver e aperfeiçoar algumas características transversais, entre as quais a assertividade, empatia, bem como a capacidade de ouvir e de veicular informação de uma forma clara e perceptível.

### 3.4. Ameaças

#### 3.4.1. Medicamentos Esgotados

Ao longo do período de estágio era sistematicamente confrontada com medicamentos que se encontravam esgotados no mercado nacional ou cuja distribuição se encontrava condicionada (rateados).

Tais circunstâncias geram um grande inconveniente para a Farmácia, mas sobretudo para o utente que fica privado do acesso à medicação. Na impossibilidade de arranjar o(s) medicamento(s), tentava expor o problema ao utente e procurar a alternativa mais viável para que este pudesse dar continuidade à terapêutica. Maioritariamente tratavam-se de medicamentos com alternativas disponíveis no mercado.

No entanto, alguns utentes não se mostravam muito tolerantes e recetivos em relação a esta questão, gerando algum conflito, o que debilita a postura do farmacêutico e prejudica a satisfação do utente.

#### 3.4.2. Proximidade de Locais de Venda de MNSRM

Segundo o Decreto-Lei n.º 134/2005, os MNSRM podem ser comercializados fora das farmácias, em locais que cumpram os requisitos legais e regulamentares, com o intuito de facilitar o acesso aos mesmos pelo aumento do número de pontos de venda (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

Nas proximidades da Farmácia Nova encontram-se locais de venda de MNSRM, o que se revela uma ameaça, uma vez que, por não estarem sujeitos aos mesmos requisitos legais que as farmácias, apresentam os mesmos produtos a preços mais acessíveis.

Estas circunstâncias poderão ser aliciantes para os utentes que, dada a conjuntura económica atual, procuram os melhores preços em detrimento do melhor aconselhamento.

Esta “liberalização” na venda de MNSRM pode, por isso, constituir um risco para o utente por fomentar a automedicação sem garantir um aconselhamento adequado, o que poderá induzir a sua má utilização e representar, concomitantemente, uma ameaça para a economia das farmácias.

#### **4. Conclusão**

Revestindo-se de um carácter coesivo, instrutivo e integrador de conhecimentos, o estágio curricular em Farmácia Comunitária assumiu-se como uma etapa conclusiva de extremo empenho, enriquecimento e singularidade, destacando-se pelo notório crescimento tanto a nível profissional, bem como a nível pessoal.

Dedicada ao utente e fiel aos valores farmacêuticos, a Farmácia Nova constituiu um espaço ímpar, devendo largamente todo o seu reconhecimento e mérito à dedicação e trabalho da sua equipa técnica constituinte. Constatei que a atenção, companheirismo e preocupação foram premissas que pautaram todo o percurso que percorri, motivando-me para um aperfeiçoamento constante do trabalho prestado e incentivando o meu processo contínuo de aprendizagem e formação. Para além do reconhecível profissionalismo atribuído a toda a equipa, a relação estabelecida entre cada profissional e os utentes transparecia um ambiente de inteira afeição, entreaajuda, preocupação e empatia, o que se manifestou igualmente fundamental na minha preparação para o mercado de trabalho.

Revisando o percurso traçado, assumo, verdadeiramente, que esta experiência se classifica como um marco positivo, viabilizando a interligação perfeita entre a aplicação dos conhecimentos alcançados, ao longo da ampla formação proporcionada pelo MICEF, e o contacto com a prática profissional em toda a sua dimensão.

## 5. Referências Bibliográficas

FARMÁCIAS PORTUGUESAS - **Ostomia na sua Farmácia.** [Consultado a 21 de junho de 2018]. Disponível na internet: <https://www.farmaciasportuguesas.pt/menu-principal/bem-estar/ostomia-na-sua-farmacia.html>

KAIZEN INSTITUTE - **O que é Kaizen?** Lisboa, 2018. [Consultado a 2 de maio de 2018]. Disponível na Internet: <https://pt.kaizen.com/quem-somos/significado-de-kaizen.html>

MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Decreto-Lei n.º 134/2005 de 16 de agosto.** Diário da República n.º 156 – Série I-A (2005) 4763–4765.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Portaria n.º 594/2004 de 2 de junho.** Diário da República n.º 129 – Série I-B (2004) 3441–3445.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Portaria n.º 97/2018 de 9 de abril.** Diário da República n.º 69 – Série I (2018) 1556–1557.

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **A Farmácia Comunitária.** [Consultado a 23 de abril de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>

SANTOS, H.J., CUNHA, I., COELHO, P., CRUZ, P., BOTELHO, R., FARIA, G., MARQUES, C., GOMES, A. - **Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária (BPF).** 3ª Edição. Concelho Nacional da Qualidade, 2009. [Consultado a 28 de maio de 2018]. Disponível em:

[https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/boas\\_praticas\\_farmaceuticas\\_para\\_a\\_farmacia\\_comunitaria\\_2009\\_20853220715ab14785a01e8.pdf](https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/boas_praticas_farmaceuticas_para_a_farmacia_comunitaria_2009_20853220715ab14785a01e8.pdf)

VENALINK - **O QUE É O SPD?** [Consultado a 10 de junho de 2018]. Disponível na internet: <http://www.venalink.es/pt-pt/que-e-o-sistema-personalizado-de-dispensao-venalink/>

## 6. Anexos

### Anexo I – Caso Clínico

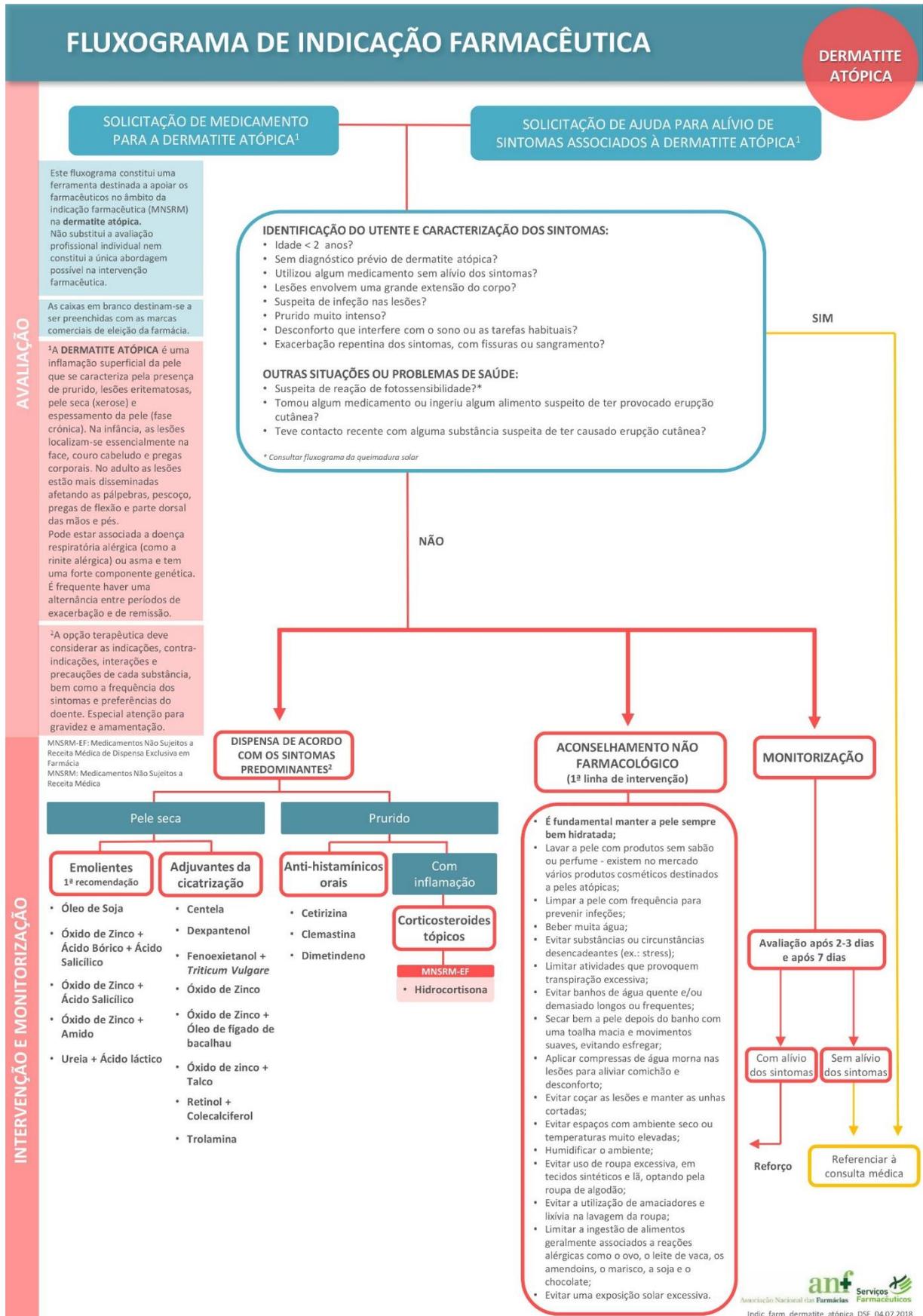
Uma senhora idosa dirige-se à farmácia à procura de algo que lhe alivie a tosse irritativa, que perdura há já alguns dias e se intensifica no período da noite.

Perante esta situação inquiri a utente de forma a obter a máxima informação para uma correta caracterização dos sintomas. Tentei perceber se tinha mais algum sintoma associado e se tinha tomado algum medicamento, nos últimos dias, para alívio dos sintomas, ao que a utente me respondeu negativamente. Logo após, questionei a utente quanto a outros problemas de saúde, nomeadamente doença respiratória crónica ou diabetes, pelo que me confirmou ser diabética há já vários anos.

De acordo com o sintoma predominante (tosse irritativa), o meu aconselhamento incidiu sobre o Herbisland® (extrato de musgo da Islândia). Este xarope à base de plantas está indicado no alívio da tosse seca, dor de garganta e rouquidão e não contém açúcar. Exclui o Grintuss® por conter na sua composição mel e a utente ter referido ser diabética.

Referi ainda a necessidade da ingestão regular de água e outros líquidos, tais como chás, garantindo uma boa hidratação e frisando a importância da monitorização dos sintomas.

Anexo 2 – Fluxograma de Indicação Farmacêutica



Anexo 3 – Ostomias na Farmácia



**FARMÁCIA NOVA** OSTOMIAS NA FARMÁCIA Márcia Martins Sara Martins

### OSTOMIA



Intervenção cirúrgica, que tem como objetivo a criação de uma abertura artificial no corpo do doente.

Existem três tipos de ostomia:

- de alimentação (gastrostomia e jejunostomia);
- de respiração (traqueostomia);
- de eliminação (colostomia, ileostomia e urostomia).

### OSTOMIA

Nome	Colostomia	Ileostomia	Urostomia	Traqueostomia
Abertura	Intestino Grosso	Intestino Delgado	Aparelho urinário	Traqueia
Finalidade	Excreção de fezes de consistência mais sólida	Excreção de fezes de consistência mais líquida	Excreção de urina	Respiração
Material Base	Saco fechado e descartável	Saco aberto ou drenável	Sacos Diversos	Cânula

### TIPOS DE ESTOMA




Os estomas não possuem terminações nervosas nem causam dor. Contudo, são ricos em vasos sanguíneos e podem sangrar levemente se friccionados ou irritados.

### PAPEL DO FARMACÊUTICO

Passa por um reforço de acompanhamento destes doentes, eliminando o estigma que existe sobre este tema e apoiando não apenas o doente, mas também o cuidador.

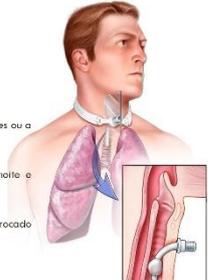
Ssaltando que particularmente nestas situações é mais simples e mais importante saber como prevenir os problemas de pele do que tratá-los.

### TRAQUEOSTOMIA

O estoma é feito no tubo da traqueia e tem como objetivo garantir a respiração.

#### HIGIENE E LIMPEZA

1. A limpeza da cânula deve ser feita recorrendo a escovilhas ou a escovas adequadas para o efeito;
2. Geralmente é recomendada a limpeza da manhã e à noite e sempre que a cânula se apresente entupida com secreções;
3. O material exterior de fixação da cânula deve ser trocado sempre que estiver húmido ou sujo.



### ESCOLHER O SACO ADEQUADO

O estoma vai mudar de tamanho, tornando-se mais pequeno à medida que passa o tempo desde a operação. Só após **cerca de um mês e meio** depois da operação é que adquire o seu **tamanho definitivo**.

A escolha do saco é uma decisão médica e feita de acordo com as necessidades do utente existindo no mercado uma série de opções viáveis que se adequam a cada situação.

### SACOS DE ILEOSTOMIA

As fezes recolhidas são **líquidas**, mais enzimáticas e por isso mais ácidas. Aumentando a agressividade para a pele o que implica um cuidado mais apertado.

Os sacos de ileostomia são adoptados para serem esvaziados sem que seja necessário a sua remoção e, desde que se mantenham limpos, podem ser usados durante mais tempo.

Existem **espessante** ou **gelificantes** das fezes, mas, uma vez usados, os sacos passam a ser de imediato descartáveis.

### SACOS DE ILEOSTOMIA



### SACOS DE COLOSTOMIA

Os sacos de colostomia para recolha de fezes sólidas são **totalmente descartáveis**.

O conteúdo não deve **nunca ultrapassar os três quartos** da capacidade do saco, para que o peso não repuxe e agrida a pele, assim como para evitar extravasamentos.

As opções de duas peças, compostas por uma placa hidrocolóide que pode permanecer colada ao corpo até três a quatro dias, onde os sacos podem depois ser encaixados, são menos agressivos para a pele. No entanto há utentes com preferência pelo sistema de uma só peça.



### APLICAÇÃO DOS SACOS

Como Aplicar o Sistema de Duas Pegas

1. Fazer, de um modo suave, a higiene normal do estoma.
2. Medir o diâmetro do estoma, com o auxílio de um medidor de estomas.
3. Recortar o orifício central até ao diâmetro desejado.
4. No caso de a pele apresentar uma superfície irregular → aplicar pasta para alisar as imperfeições.
5. Destacar o papel protetor e aplicar a placa sobre o estoma, para adaptar corretamente a parte adesiva – protetor catiloso do estoma. Exercer o saco na placa, exercendo pressão nos arcos e assegurando-se de que fica bem preso.
7. A placa pode permanecer na pele vários dias, será o doente orientado a decidir quando deverá retirar e substituir por uma nova. Ao fazê-lo, descolar pela parte superior, usando as duas mãos. Quando retirar, limpar a pele e aplicar nova placa e saco.

### APLICAÇÃO DOS SACOS

Como Aplicar o Sistema de Uma Pega

1. Fazer, de um modo suave, a higiene normal do estoma.
2. Medir o diâmetro do estoma, com o auxílio de um medidor de estomas.
3. Tratando-se de um saco recortável, deve desenhar a forma do estoma sobre o papel de proteção, recortando-o depois.
4. No caso de a pele apresentar uma superfície irregular → aplicar pasta para alisar as imperfeições.
5. Destacar o papel protetor e aplicar o saco de baixo para cima.
6. Para retirar o saco, faça-o de cima para baixo com as duas mãos, em que uma segura o protetor e a outra apoia a pele para evitar irritações.

### ACESSÓRIOS DE OSTOMIA

- Spray removedor de películas autocolantes;
- Cremes barreira para proteção da pele;
- Cintas para suporte dos sacos;
- Adesivos hidrocólóides para reforço de aderência dos sacos;
- Barras de silicone ou pastas para preenchimento de pregos na pele;
- Toalhetes de limpeza específicos;
- Pós de cicatrização.

### LIMPEZA

A limpeza regular dos dispositivos de ostomia de eliminação deve ser feita recorrendo apenas a soro fisiológico e compressas. A limpeza pode ainda ser feita com água e sabão neutro e uma esponja natural ou outro material suave.

Secar bem a pele ao redor do estoma com papel absorvente e sem esfregar. É muito importante que a pele esteja bem seca para que se possa aderir o saco.

Possuir sempre um "kit de emergência".

### CUIDADOS COM A PELE

A pele em redor do estoma deve estar bem protegida utilizando sacos que se adequem ao estoma. Podem ter-se cuidados complementares como a aplicação de pastas protetoras que no entanto não interfiram com a adesão do saco.

Retirar o saco com movimentos delicados, de cima para baixo segurando a pele.

Pêlos do abdômen devem ser cortados em vez de rapados para evitar irritação.

No caso de irritação usar pós apropriados de regeneração e cicatrização.

### DIETA

Nem todos os utentes serão afetados do mesmo modo.

De um modo geral, deve apostar-se numa alimentação adequada e equilibrada e com a ingestão de muitos líquidos, deve evitar-se alimentos que causem desconforto nomeadamente pela acentuação do odor.

Ter em atenção que existem alimentos capazes de alterar a cor do conteúdo eliminado.

### DIETA – CONSELHOS ESPECÍFICOS

**Colostomia/Ileostomia:** Imediatamente após a colostomia ou ileostomia o doente deve ingerir uma maior quantidade de água, devido a uma possível diminuição da absorção desta no intestino. É ainda de destacar que os doentes com ileostomia devem evitar os frutos secos e, devido ao teor em fibra, as laranjas.

**Urostomia:** doentes urostomizados devem beber cerca de 3 litros de líquidos por dia, incluindo bebidas com elevado teor de vitamina C para acidificar a urina e reduzir os depósitos minerais.

Tabela 1. Guia de Alimentos para doentes com Colostomia, Urostomia e Ileostomia

Alimentos que produzem gás	Alimentos que produzem odor	Alimentos que podem causar obstrução no estoma	Alimentos que podem dar uma coloração vermelha ao estoma	Alimentos que podem alterar a coloração e odor
Alcool	Alho	Algo	Refratária	Salva
Alcachofra	Brócolos	Ananás	Mirangoes	Suco de arando
Banana	Cebola	Carreiteiro	Milho de torrada	Loganite
Belduças / péti	Couve de Braxelas	Cacó		
Brócolos	Couve-flor	Coqueletes		
Cano de Vaca	Chicris	Milho		
Cebola	Feijão	Nozes		
Coqueletes	Feijão	Piçocas		
Loaves de Braxelas	Queijo (espuma)	Uvas		
Craveiro				
Esparagos				
Fenol				
Peprino				
Uvas				



### DIARREIA, OBSTIPAÇÃO E MEDICAÇÃO

Em primeiro lugar é essencial rever a alimentação e a medicação do doente. No caso da obstipação, por exemplo, um aumento da ingestão de água e fibra pode resolver a situação, antes da necessidade de referenciação ao médico. No caso da diarreia, principalmente no caso da ileostomia, é necessária alguma atenção extra e a ingestão de uma maior quantidade de líquidos.

Tabela 2. Medicamentos e produtos de saúde vs Ostomia

Medicamento/Produto	Ostomia	Efeito
Laxantes	Ileostomia	Podem causar um desequilíbrio eletrolítico e de fluidos. Se possível evitar o uso.
Medicamentos/Produtos que contêm alumínio	Ileostomia	Podem causar obstipação, devido a uma maior perda de líquido via ileostomia. Se possível evitar o uso.
Contracetivos Oraís	Ileostomia	Podem ocorrer uma absorção incompleta. Aconselhar um método barreira complementar ou referenciar ao médico para a prescrição de um método hormonal diferente.
Medicamentos/Produtos que contêm magnésio	Colostomia/Ileostomia	Podem causar diarreia, devido a um aumento da retenção de fluidos e distensão da redeção. Se possível evitar o uso.
AINES	Colostomia/Ileostomia	Podem causar irritação gástrica e hemorragia. Dar preferência ao uso de paracetamol, sempre que possível.
Produtos com cálcio	Urostomia	Podem formar-se pedras devido a um aumento de cálcio na urina. Se possível evitar o uso.
Exfoliantes	Tricostomia	Podem aumentar a espessura e a deposição de muco. Evitar o uso.

### A ATIVIDADE SEXUAL

Numa fase inicial o doente pode sentir alguma reticência em retomar a sua atividade sexual, sendo esta causada maioritariamente por uma sensação de desconforto do próprio. No entanto é importante realçar que, a nível funcional, nas mulheres a função sexual, geralmente, não é afetada. Nos homens, apenas na Urostomia pode haver uma diminuição da potência sexual, influenciada maioritariamente pelas razões que levam à cirurgia.

### TOMAR BANHO OU PRATICAR DESPORTOS AQUÁTICOS

O doente pode tomar banho de imersão e tomar duche, com ou sem o saco. O contacto da estoma com a água não traz qualquer consequência. Se pretender nadar, pode fazê-lo, devendo apenas reforçar a aderência dos dispositivos com um adesivo impermeável.

Atualmente existem fatos de banho que têm uma adaptação aos dispositivos de ostomia para proporcionar um maior bem-estar ao utente.



### ENGRAVIDAR

Uma ostomizada pode ter uma gravidez perfeitamente normal. Deve apenas informar-se junto de um médico para que saiba quais os cuidados específicos que possam ser necessários.

### “VALORMED” PARA OS SACOS DE OSTOMIA

O conteúdo dos sacos deve ser descartado para locais apropriados, nomeadamente para a sanita. Após o esvaziamento, os sacos devem ser colocados com os resíduos normais de lixo doméstico.

Existem já alguns sacos de materiais biodegradáveis.

## **Capítulo III**

# **ALTERAÇÕES DO RITMO CIRCADIANO NA DOENÇA DE ALZHEIMER**

Orientadora: Professora Doutora Cláudia Margarida Gonçalves Cavadas

## I. LISTA DE ABREVIATURAS

3XTg-DA - Modelo Animal Triplo Transgénico da Doença de Alzheimer

5-HT7 - Recetor da Serotonina do Tipo 7

AMPA - Ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propiónico

APOE - Apolipoproteína E

APP - Proteína Transmembranar Precursora Amilóide

AVP - Arginina Vasopressina

A $\beta$  - Beta-Amilóide

BMAL 1 - *Brain and Muscle-Arnt-like Protein-1*

cAMP - Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico

CLCF - Fator 1 de Citocina Análoga da Cardiotrofina

CLOCK - *Circadian Locomotor Output Cycles Kaput*

CREB - *cAMP Response Element-binding Protein*

CRY - *Cryptochrome*

DA - Doença de Alzheimer

IGF-I - Fator de Crescimento Tipo I Derivado da Insulina

IL-6 - Interleucina - 6

IRS-1 - Substrato do Recetor da Insulina 1

ISF - Fluido Intersticial

LCR - Líquido Cefalorraquidiano

LLC - *Late Life Cyclers*

MAPK - Proteína Cinase Ativada por Mitogénio

MMSE - Mini Exame do Estado Mental

MT1 - Recetor da Melatonina Tipo 1

MT2 - Recetor da Melatonina Tipo 2

NMDA - N-metil D-aspartato

NREM - *Non-rapid Eye Movement*

PER - *Period*

PKR2 - Recetor Tipo 2 da Procinetina

PS1 - Presinilina 1

PS2 - Presinilina 2

PSG - Polissonografia

RE - Retículo Endoplasmático

REM - *Rapid Eye Movement*

ROR - Recetor Relacionado com Retinoide (do inglês: *retinoid-related orphan receptor*)

ROS - Espécies Reativas de Oxigénio

SCN - Núcleo Supraquiasmático

SNA - Sistema Nervoso Autónomo

SWS - Sono de Ondas Lentas (do inglês: *slow-wave sleep*)

TGF -  $\alpha$  - Fator de Crescimento Transformante Alfa

TNF -  $\alpha$  - Fator de Necrose Tumoral Alfa

VIP - Peptídeo Vasoativo Intestinal

**II. LISTA DE FIGURAS**

**Figura 1** – Mecanismo Fisiopatológico da DA .....46

**Figura 2** – Organização Molecular do Sistema Circadiano .....50

**Figura 3** – Produção de Melatonina pela Glândula Pineal ..... 51

**Figura 4** – Relação Bidirecional entre os Distúrbios do Sono e a DA.....61

### III. RESUMO

Múltiplos processos vitais são influenciados pelo ritmo circadiano, gerado por um conjunto de relógios biológicos endógenos, sob o controlo do núcleo supraquiasmático. O sistema circadiano garante a manutenção da homeostasia, ao permitir que os organismos se adaptem em função dos estímulos externos. Considerando a importância da biologia circadiana na regulação da saúde do organismo depreende-se que, qualquer interrupção deste sistema pode afetar negativamente múltiplas funções fisiológicas, aumentando a suscetibilidade a diversas patologias.

Nos últimos anos têm surgido diversos estudos que sugerem que os distúrbios circadianos estão na origem do curso das doenças neurodegenerativas, precedendo o declínio cognitivo e, contribuindo igualmente para a sua progressão.

A presente monografia aborda os potenciais mecanismos que relacionam a disfunção do ritmo circadiano e as alterações do ciclo sono-vigília, com a progressão da doença de Alzheimer. A perturbação do sono parece facilitar a acumulação beta-amilóide, através da sua eliminação disfuncional, aumento da atividade sináptica e *stress* celular. Consequentemente, a patogénese da doença de Alzheimer pode comprometer as regiões cerebrais que modulam o ciclo sono-vigília e afetar os neurotransmissores implicados nos processos do sono, vinculando uma relação bidirecional.

Serão ainda referidas as terapêuticas, atualmente disponíveis, que visam sincronizar os relógios biológicos, os resultados obtidos e os fatores que podem contribuir para as discrepâncias encontradas nos diferentes estudos.

O conhecimento do cariz bidirecional que se estabelece entre a doença de Alzheimer e as alterações do sistema circadiano, em particular do ciclo sono-vigília, permite perspetivar a manipulação deste sistema para promover o envelhecimento cerebral saudável.

**Palavras-chave:** doença de Alzheimer; ritmo circadiano; genes relógio; neurodegenerescência; cronoterapia.

#### IV. ABSTRACT

Multiple vital processes are influenced by circadian rhythm, which is generated by a set of endogenous biological clocks, under the control of the suprachiasmatic nucleus. The circadian system ensures the maintenance of homeostasis by allowing organisms to adapt in function of external stimuli. Considering the importance of circadian biology in regulating the health of the organism, it can be concluded that any interruption of this system can adversely affect multiple physiological functions, as well as increasing the susceptibility to various pathologies.

Increasing evidence suggests that circadian disorders are at the origin of the course of neurodegenerative diseases, preceding cognitive decline and also contributing to its progression.

The present monograph discusses the potential mechanisms that relate circadian rhythm dysfunction and changes in the sleep-wake cycle with the progression of Alzheimer's disease. Sleep disturbance seems to facilitate beta-amyloid accumulation, through its dysfunctional elimination, increased synaptic activity and cellular stress. Consequently the pathogenesis of Alzheimer's disease may compromise the brain regions that modulate the sleep-wake cycle and affect the neurotransmitters involved in the sleep processes, linking a bidirectional relationship.

The currently available therapeutics that aim to synchronize the biological clocks as well as, the results obtained and the factors that may contribute to the discrepancies found in the different studies will also be mentioned.

The knowledge of the bidirectional nature that is established between Alzheimer's disease and the changes of the circadian system, in particular of the sleep-wake cycle, allows to prospect the manipulation of this system to promote healthy brain aging.

**Keywords:** Alzheimer's disease; circadian rhythm; clock genes; neurodegeneration; chronotherapy.

### I. Introdução

O ritmo circadiano – ciclos fisiológicos e comportamentais com uma periodicidade de aproximadamente 24h – é regulado pelos designados relógios biológicos endógenos. Codificados no nosso ADN, os relógios circadianos, são responsáveis por regularem a expressão de milhares de genes na hora certa do dia ou da noite, ditando a ritmicidade de múltiplos processos biológicos do nosso organismo, designadamente níveis hormonais, alimentação, temperatura corporal e ciclo sono-vigília (VIDENOVIC *et al.*, 2014).

Considerando a importância da biologia circadiana na regulação da saúde do organismo, depreende-se que qualquer interrupção deste sistema possa afetar negativamente a qualidade do sono, o estado de alerta, o desempenho cognitivo, o controlo motor, a saúde mental e o metabolismo (CHAUHAN *et al.*, 2017).

Muitas dessas funções tornam-se prejudicadas em distúrbios neurodegenerativos, como a doença de Alzheimer (DA), doença de Parkinson e doença de Huntington, em que várias áreas do cérebro - incluindo os núcleos envolvidos na regulação circadiana e do sono - são afetadas por processos neurodegenerativos. Não é de surpreender, portanto, que esses distúrbios frequentemente impliquem uma quebra progressiva dos ciclos normais de repouso-atividade, sono e alerta. Essa interrupção do ritmo circadiano não apenas contribui para a morbilidade e a má qualidade de vida, mas também está envolvida na progressão da doença (VIDENOVIC *et al.*, 2014).

Esta monografia aborda a questão da possível relação bidirecional entre os distúrbios neurodegenerativos da DA e a disfunção do ritmo circadiano. Uma melhor compreensão de como esta disfunção pode contribuir para os mecanismos de doenças neurodegenerativas, pode ajudar no desenvolvimento de novas terapias para a DA e para outros distúrbios neurodegenerativos.

Serão, igualmente, alvo de discussão as abordagens terapêuticas que visam corrigir a disfunção circadiana em doenças neurodegenerativas, incluindo a fototerapia e o uso da melatonina, os motivos que estão na origem dos resultados díspares, envolvendo estas terapêuticas, e, por último, quais as respetivas perspectivas futuras a nível clínico.

## 2. Doença de Alzheimer

### 2.1. Epidemiologia

Nos últimos 30 anos a DA tem sido alvo de vastos estudos epidemiológicos, e embora estes nos forneçam uma estimativa geral do grau de comprometimento cognitivo da população idosa, a estimativa da sua incidência e prevalência deve ser feita de forma crítica, devido à complexidade do diagnóstico e à existência de outras comorbilidades causadoras de défices cognitivos. O mesmo problema vale para associações putativas com fatores de risco (MASTERS *et al.*, 2015).

Baseando-se e fundamentando-se em dados populacionais recolhidos ao longo dos anos 90 no continente europeu, um estudo colaborativo descreveu uma prevalência da DA, referente à faixa etária com mais de 65 anos, na ordem dos 4,4 % (LOBO *et al.*, 2000). É constatável que o aumento do número de indivíduos, portadores de DA, acompanha de forma intrínseca o envelhecimento da população idosa, transcrita a uma escala mundial. No ano de 2006, o número de doentes com DA foi de 26,6 milhões em todo o mundo e as previsões apontam que em 2050 chegue a 106,2 milhões, sendo que 16,51 milhões destes indivíduos refletirão a prevalência da patologia a nível europeu (BROOKMEYER *et al.*, 2007). Estudos mais recentes suportam esta tendência crescente, prevendo um aumento de 87% na região europeia no período entre 2010-2050 (PRINCE *et al.*, 2013).

Em Portugal, os dados disponíveis até ao momento presente, não consignam uma amostra suficientemente coesa e robusta em relação à prevalência da DA, pelo que impera a inevitabilidade de recorrer às estatísticas europeias, que possibilitam um conhecimento extrapolativo mais fidedigno e legítimo da realidade portuguesa (SANTANA *et al.*, 2015).

### 2.2. Caracterização dos Fatores de Risco

A DA esporádica é a forma mais comum (> 95%) e complexa da doença e resulta da combinação de influências genéticas e ambientais, sendo ditada por um início tardio (> 65 anos). Contudo, uma porção mínima dos doentes portadores (< 1%) manifesta uma forma hereditária da patologia citada. Para além de prevalente em idades relativamente precoces (surgimento perto dos 45 anos), esta componente hereditária da doença é despoletada por mutações detetadas nos genes responsáveis pelo processamento do peptídeo beta-amilóide (A $\beta$ ). Ambas as formas descritas da DA (esporádica e familiar) são alvo de comparabilidade em múltiplos parâmetros e fatores clínicos, tais como a taxa de progressão da doença e os perfis de biomarcadores (MASTERS *et al.*, 2015; PIACERI *et al.*, 2013).

Um dos principais fatores de risco para DA é a idade, o que sugere que os processos biológicos relacionados com o envelhecimento podem estar implicados na fisiopatologia da

doença. Além disso, a forte associação com o aumento da idade pode refletir, parcialmente, o efeito cumulativo de diferentes fatores de risco ao longo da vida, incluindo o efeito de interações complexas de suscetibilidade genética, fatores psicossociais, fatores biológicos e exposições ambientais a toxinas (QIU *et al.*, 2009).

O polimorfismo associado ao gene que codifica para a apolipoproteína E (APOE) é o principal fator de risco genético, aumentando potencialmente a suscetibilidade à DA. Existem 3 alelos principais do gene APOE: APOE  $\epsilon$ 2, APOE  $\epsilon$ 3 e APOE  $\epsilon$ 4. Embora o mecanismo através do qual a APOE afeta a DA não esteja inteiramente clarificado, sabe-se que estas proteínas medeiam a clearance A $\beta$ , sendo a APOE  $\epsilon$ 4 muito menos eficaz quando comparada com as restantes formas (HOLTZMAN *et al.*, 2000; KARRAN *et al.*, 2011). Adicionalmente, a conformação única da isoforma  $\epsilon$ 4 torna-a suscetível à proteólise, resultando na geração de fragmentos neurotóxicos, que estão associados a disfunção mitocondrial e alterações no citoesqueleto dos neurónios (MAHLEY e HUANG, 2012; SCHELTENS *et al.*, 2016).

Evidências crescentes e fundamentadas indicam que variados fatores, subjacentes ao estilo de vida, assumem também um destaque considerável na demência. A diabetes, a obesidade, a inatividade física e mental, a hipertensão, o tabagismo e o baixo índice de escolaridade constituem alguns desses fatores, sendo que o potencial de prevenção primária inerente a estes elementos é enorme, mas ainda assim deve ser mais explorado (NORTON *et al.*, 2014).

### 2.3. Fisiopatologia e Mecanismos Moleculares da Doença

A DA, descrita em 1907 pelo neurologista Alois Alzheimer, é uma doença neurodegenerativa multifatorial, de início insidioso, caracterizada pela perda de memória e comprometimento cognitivo dos doentes (ERATNE *et al.*, 2018; LAFERLA *et al.*, 2007).

As duas principais características histopatológicas da DA são a presença de placas senis e novos neurofibrilares no cérebro (**Fig. 1**). As placas são formadas por peptídeos A $\beta$  que resultam da clivagem proteolítica da proteína transmembranar precursora amilóide (APP), realizada por complexos enzimáticos denominados  $\beta$ - e  $\gamma$ -secretases, originando os fragmentos A $\beta$  que dão origem às placas senis. Os novos neurofibrilares são inclusões somáticas da proteína tau hiperfosforilada associada aos microtúbulos (BALLARD *et al.*, 2011; NTSAPI *et al.*, 2018).

Os monómeros da proteína tau ligam-se primeiramente para formar oligómeros, que então dão origem aos novos neurofibrilares, que são agregados insolúveis que perturbam a estrutura e função do neurónio. A proteína tau encontra-se hiperfosforilada e, embora não esteja completamente claro o papel da fosforilação na agregação desta proteína, sabe-se que

é importante na redução da sua afinidade para os microtúbulos, o que conduz à sua destabilização, degeneração da membrana e danos neuronais (BALLARD *et al.*, 2011; CALSOLARO e EDISON, 2016).

Um dos mecanismos de neurodegenerescência da DA consiste na cascata amilóide, que sugere que a deposição do peptídeo A $\beta$  no parênquima cerebral desencadeia uma cascata de eventos patológicos que culminam em disfunção neuronal progressiva. Essa disfunção está associada a alterações do processamento do peptídeo A $\beta$ , nomeadamente mutações dominantes no gene que codifica a APP, presinilina 1 (PS1) e presinilina 2 (PS2) (proteínas homólogas que formam o local ativo da  $\gamma$ -secretase) (BALLARD *et al.*, 2011; CALSOLARO e EDISON, 2016). A maioria das mutações resulta na superprodução de A $\beta$  - especificamente, a isoforma de 42 aminoácidos, que possui características amiloidogênicas (isto é, é mais propensa à agregação) (MASTERS *et al.*, 2015).

A APP é uma glicoproteína transmembranar que se assume estar envolvida na plasticidade sináptica (MASTERS *et al.*, 2015). Esta proteína pode sofrer processamento proteolítico por duas vias - via não amiloidogénica e a via amiloidogénica:

I) Na via não amiloidogénica, a APP é clivada sequencialmente pela  $\alpha$ -secretase e  $\gamma$ -secretase, dando origem a um pequeno fragmento denominado p3. A clivagem pela  $\alpha$ -secretase ocorre dentro da região A $\beta$ , impossibilitando assim a formação de A $\beta$ ;

II) Na via amiloidogénica, a clivagem da APP ocorre inicialmente por ação da  $\beta$ -secretase numa posição localizada a 99 aminoácidos da extremidade C-terminal, resultando na libertação de sAPP $\beta$  para o espaço extracelular. O processamento adicional do fragmento resultante, pela  $\gamma$ -secretase, resulta na libertação de um peptídeo A $\beta$  intacto (LAFERLA *et al.*, 2007; SUZHEN *et al.*, 2012). Dependendo do ponto exato da clivagem, são produzidas três formas principais de A $\beta$ , compreendendo 38, 40 ou 42 resíduos de aminoácidos, respetivamente. A quantidade de A $\beta$ <sub>42</sub> formada é particularmente digna de destaque, porque esta forma é mais propensa a oligomerizar e formar as placas, do que a forma A $\beta$ <sub>40</sub>, que é a que é produzida mais abundantemente (WALSH e SELKOE, 2007).

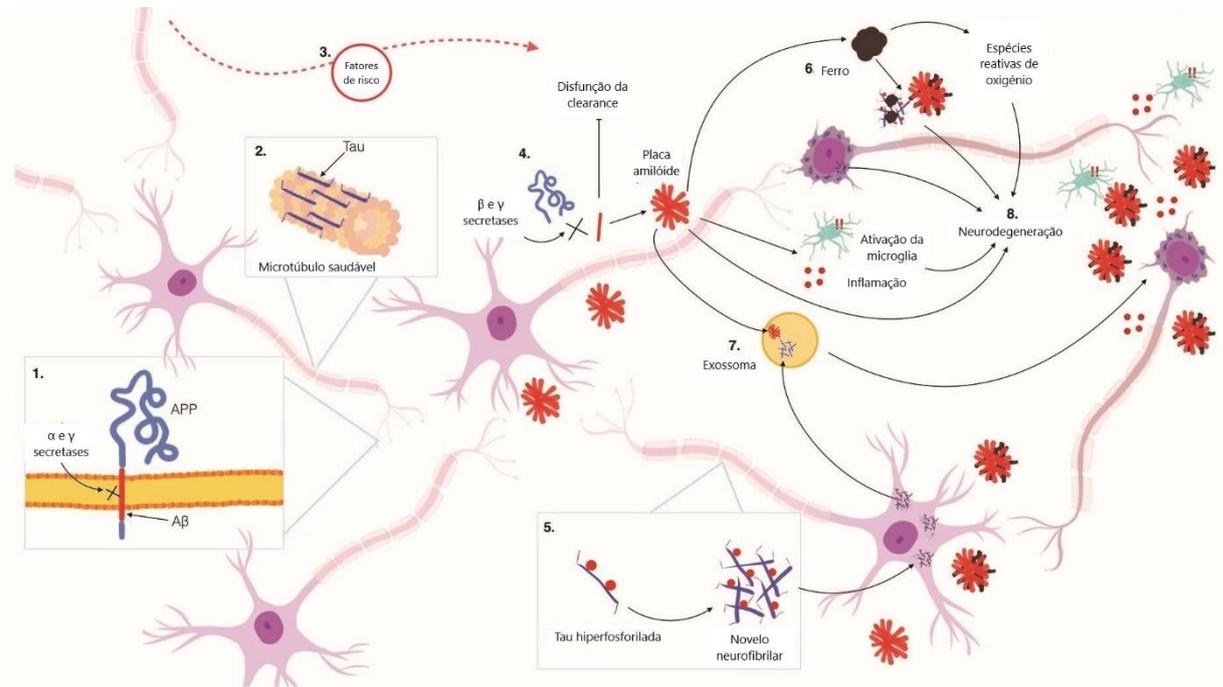
No entanto, o envolvimento da cascata amilóide, por si só, não explica de forma suficiente e unívoca o dano neuronal relacionado com a DA. Também a ativação da microglia, ocasionada pela neuroinflamação, assume um papel preponderante na patogénese desta doença (BALLARD *et al.*, 2011; CALSOLARO e EDISON, 2016).

O processo inflamatório está associado a um vasto número de doenças, como diabetes, aterosclerose, artrite reumatoide, esclerose múltipla e várias doenças neurodegenerativas, incluindo a DA. Tal evidência é suportada pela elevação dos níveis de citocinas pró-

inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) ou a interleucina-6 (IL-6), cuja presença é detetada no soro e tecidos dos doentes com DA (CALSOLARO e EDISON, 2016).

No desencadeamento de uma lesão inflamatória aguda localizada no tecido cerebral, suscita-se uma resposta defensiva primária das células da glia, visando recuperar o dano perpetuado. Contudo, se a atuação do fator lesante persistir, é arquitetada uma resposta inflamatória crônica, que constitui uma condição nociva para o sistema nervoso central, contribuindo para a disfunção, lesão e perda neuronal. Em acrescento foi verificado que a análise *post-mortem* dos cérebros dos doentes era definida pela evidência da microglia se apresentar co-localizada com as placas amilóides (CALSOLARO e EDISON, 2016).

O peptídeo A $\beta$  e a APP têm a capacidade de ativar as células da glia, desencadeando uma resposta inflamatória e a libertação de citocinas neurotóxicas. O peptídeo A $\beta$ , em particular, liga-se às células da microglia, conduzindo à ativação das vias de sinalização extracelular mediadas pela proteína cinase e das vias da proteína cinase ativada por mitogénio (MAPK), desencadeando a expressão gênica pró-inflamatória (**Fig. I**). Ambas as formas solúveis e fibrilares de A $\beta$  parecem induzir a libertação de espécies reativas de oxigénio (ROS), o que contribui para a neurotoxicidade (CALSOLARO e EDISON, 2016).



**Figura I – Mecanismo Fisiopatológico da DA**

No processamento amiloidogénico anormal, a APP é processada pela  $\beta$ -secretase, seguida pela  $\gamma$ -secretase, resultando em fragmentos A $\beta$  (A $\beta$ 42, em particular). Esta acumulação aumentada, associado à depuração prejudicada, resulta em agregações como placas extracelulares. Há hiperfosforilação da tau, resultando na desestabilização do microtúbulo e na formação de novos neurofibrilares. A acumulação destas proteínas patogénicas e radicais livres resulta na ativação da microglia, inflamação, dano mitocondrial, stress oxidativo, défices de neurotransmissores (particularmente acetilcolina), disfunção sináptica e, por fim, morte neuronal (Adaptado de ERATNE *et al.*, 2018).

Além de um efeito neurotóxico direto, a microglia ativada e os astrócitos podem promover a deposição de A $\beta$ . As citocinas são capazes de regular positivamente a atividade da  $\beta$ -secretase, resultando num aumento da sua produção. Tais evidências são suportadas por vários estudos em modelos animais, que revelaram que a deposição amilóide é, extensivamente, mais elevada sob condições inflamatórias (CALSLARO e EDISON, 2016).

Diversos estudos têm mostrado que existem ainda outros possíveis mecanismos fisiopatológicos envolvidos na DA, nomeadamente a disfunção do processo de autofagia (FUJIKAKE *et al.*, 2018; NTSAPI *et al.*, 2018), diminuição da neurogênese (HOLLANDS *et al.*, 2017; RODRÍGUEZ e VERKHRATSKY, 2011), disfunção mitocondrial (MACDONALD *et al.*, 2018), alterações do ritmo circadiano (VIDENOVIC *et al.*, 2014), entre outros. Neste trabalho vão ser apenas abordadas, com maior detalhe, as alterações do ritmo circadiano.

Em suma, embora ainda não se conheça de forma clara e unívoca as vias moleculares, através das quais as várias alterações patológicas comprometem a função e integridade neuronal na DA, compreende-se agora melhor o mecanismo de neurodegenerescência, subjacente a esta patologia, e perspectiva-se interligá-lo à disfunção circadiana.

### 3. Sistema Circadiano

Quase todos os organismos estão sujeitos a alterações do ambiente externo, designadamente, mudanças cíclicas na luz e na escuridão (dia/noite), que ocorrem num período de 24 horas. Para se adaptarem às flutuações rítmicas do meio envolvente, desenvolveram um sistema intrínseco de relógios que gera e regula os ritmos biológicos, permitindo que os organismos se adaptem e sincronizem os vários processos fisiológicos em função dos estímulos externos (CHAN *et al.*, 2014; SCHULZ e STEIMER, 2009; VIDENOVIC *et al.*, 2014).

A sincronização circadiana (do latim “cerca de um dia”) permite a antecipação de mudanças ambientais regulares, para influenciar decisões moleculares e comportamentais, que afetam a aptidão e a sobrevivência. Portanto, o sistema circadiano permite que se atinja a homeostase temporal com o ambiente externo, a nível molecular, regulando a expressão gênica para criar um pico de expressão proteica a cada 24 horas, permitindo controlar quando um processo fisiológico é mais ativo em relação a determinado período do dia (PARTCH *et al.*, 2014).

Sabe-se que numerosos processos fisiológicos, bioquímicos e comportamentais vitais, incluindo a temperatura corporal, comportamento alimentar, secreção hormonal e homeostase da glicose, são influenciados pelo ritmo circadiano e que a sua interrupção aumenta a suscetibilidade a diversas patologias psiquiátricas, neurológicas e metabólicas (BUJIS *et al.*, 2016; CHAN *et al.*, 2014).

### 3.1. Relógios Moleculares Endógenos - Constituição e Funcionamento

A organização celular e molecular do sistema circadiano difere entre as espécies contudo, a sua estrutura geral é muito semelhante e consiste em: 1) vias aferentes (*inputs*), isto é, recetores que recebem e processam a informação dos principais *zeitgebers* ou sincronizadores, tais como a luz ou a temperatura ambiente; 2) relógio central – núcleo supraquiasmático (SCN), responsável por manter a estrutura temporal do organismo em ritmo com os *inputs*, pela sua integração em informação útil e pela transmissão dessa informação ao organismo; 3) ritmos de saída eferentes (*outputs*), através dos quais o SCN fornece informação temporal para uma grande variedade de processos fisiológicos e comportamentais, a cada célula do organismo. Além do relógio central, nos mamíferos, há osciladores adicionais no cérebro e outros órgãos, como o rim, fígado, intestino ou tecido adiposo, cuja função é sustentar o relógio central (TERZIBASI-TOZZINI *et al.*, 2017; VIDENOVIC *et al.*, 2014).

#### 3.1.1. Núcleo Supraquiasmático

O relógio central localiza-se no SCN do hipotálamo e é composto por, aproximadamente, 20.000 neurónios, responsáveis pela organização temporal de várias funções. Desse conjunto de neurónios destacam-se duas populações distintas: os neurónios que expressam arginina vasopressina (AVP) e os que expressam o peptídeo vasoativo intestinal (VIP) (TERZIBASI-TOZZINI *et al.*, 2017).

As principais vias aferentes emergem das células ganglionares da retina e atingem, diretamente, o SCN através da via retino-hipotalâmica, ou indiretamente via retino-genículo. Ao SCN chega também informação não fóptica proveniente dos núcleos da rafe, prosencéfalo basal, ponte, medula e hipotálamo posterior (VIDENOVIC *et al.*, 2014).

As vias eferentes projetam-se para a zona sub-paraventricular e núcleo paraventricular do hipotálamo, assim como para o hipotálamo dorsomedial, tálamo, áreas pré-óptica e retroquiasmática, estria terminal, septo lateral e núcleo intergeniculado. Além disso, o SCN comunica utilizando sinais humorais, tais como o fator de crescimento transformante  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), fator I de citocina análoga da cardiotrofina (CLCF) e recetor tipo 2 da procinetina (PKR2) (VIDENOVIC *et al.*, 2014).

A síntese de melatonina e a secreção de corticosteroides pelas glândulas suprarrenais assumem um papel crucial nas ligações neuronais estabelecidas entre o SCN e o Sistema Nervoso Autónomo (SNA). Por conseguinte, os ritmos hormonais abordados caracterizam-se por serem marcadores correlacionados e específicos da ritmicidade endógena, relevando-se ainda a importância do SNA na regulação dos tecidos periféricos os quais, embora

influenciados pelos seus próprios sincronizadores, são também sincronizados em função da informação mediada pelo SCN (VIDENOVIC *et al.*, 2014).

O relógio circadiano no SCN é sincronizado por sinais fóticos que são recebidos pelas células ganglionares da retina intrinsecamente foto-sensíveis que expressam melanopsina (ipRGCs) e são transmitidos via retino-hipotalâmica (HONMA, 2018). Existem cinco subtipos de ipRGCs (M1-M5), com base na sua morfologia e localização. Os ipRGCs M1 predominantemente (e, em menor extensão, os ipRGCs M2) projetam sinais fóticos para o SCN para sincronizar o relógio circadiano (SCHMIDT *et al.*, 2011).

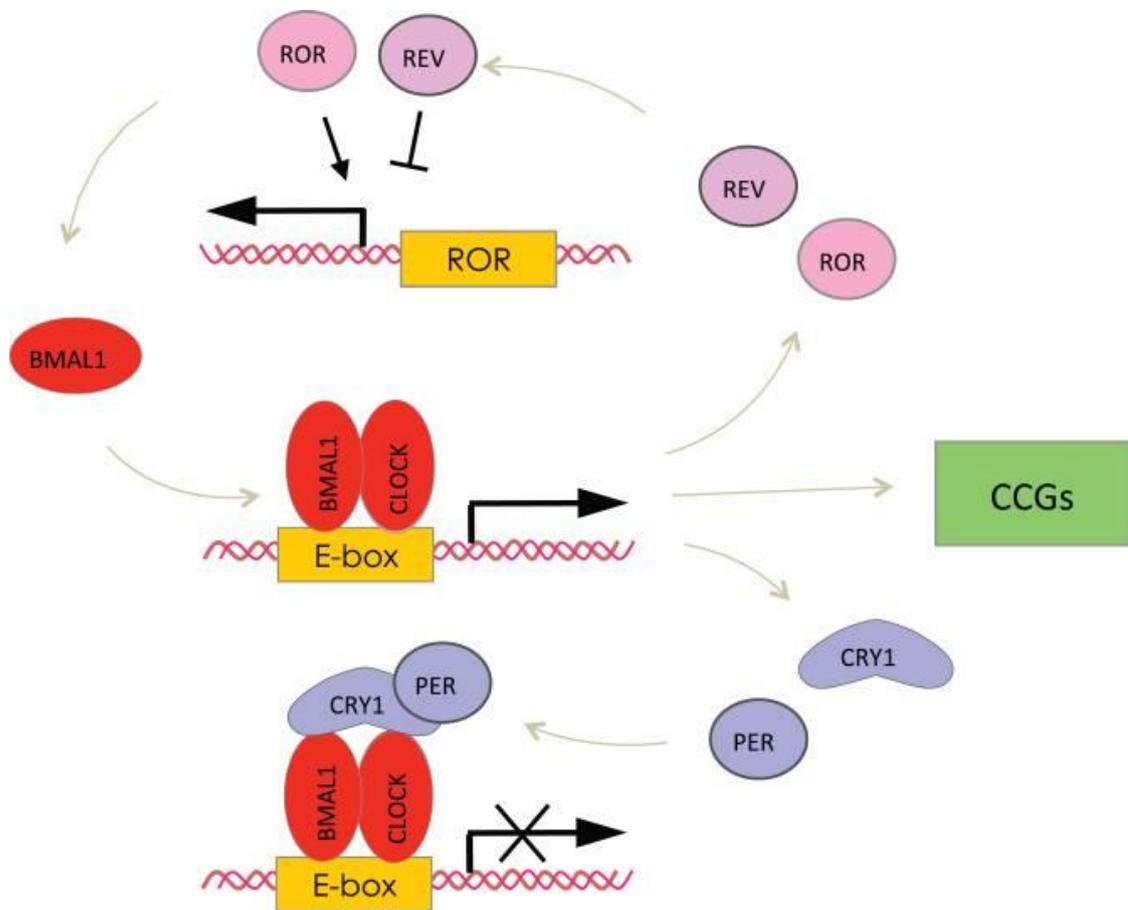
Para além de funcionarem por um mecanismo de fototransdução (conversão de um sinal fótico num sinal neuronal), os fotorreceptores designados caracterizam-se por duas particularidades cruciais e específicas: uma cinética lenta aliada a um limiar relativamente alto para a luz e, por consequência, uma capacidade potencial para se constituírem fotorreceptores circadianos ideais. Ou seja, os fotorreceptores definem-se pela integração de informações fóticas, em períodos substancialmente longos, e pela inexistência de resposta a sinais transitórios de luz que não estejam relacionados com o ciclo de luz solar. Embora os ipRGCs pareçam ser fotorreceptores circadianos ideais, eles não atuam sozinhos já que os fotorreceptores dos cones e bastonetes também intervêm no processo de fototransdução (MOHAWK *et al.*, 2012).

Os sinais fóticos, transmitidos dos ipRGCs para o core do SCN, despoletam uma cascata de acontecimentos. O glutamato, neurotransmissor da via retino-hipotalâmica, atua sobre os recetores do ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propiónico (AMPA) e N-metil D-aspartato (NMDA), conduzindo ao aumento do  $Ca^{2+}$  nos neurónios pós-sinápticos. Esse aumento, por sua vez, traduz-se na ativação de várias cinases e, como consequência, do fator de transcrição *cAMP response element-binding protein* (CREB). Este último liga-se a sequências promotoras e potenciadoras, ocasionando a transcrição de alguns genes relógio (DIBNER e SCHIBLER, 2015; HONMA, 2018).

#### 3.1.2. Genes Relógio

A nível molecular, a regulação do ritmo circadiano é desempenhada por um conjunto central de genes-relógio, designadamente os genes *Period 1* (PER1), *Period 2* (PER2), *Period 3* (PER3), *circadian locomotor output cycles kaput* (CLOCK), *brain and muscle-Arnt-like protein-1* (BMAL1) e, por fim, o *Cryptochrome 1* (CRY1) e *Cryptochrome 2* (CRY2). Os genes enunciados previamente controlam uma parte significativa do genoma humano. Em evidência do referido, constata-se que 10% de todos os genes alvo de expressão são regulados pelos genes-relógio (MUSIEK e HOLTZMAN, 2016).

No centro do sistema de relógios moleculares endógenos estão os ativadores transcricionais, CLOCK e BMAL1, os quais constituem um heterodímero que se liga a sequências da E-box, regulando positivamente a expressão dos genes PER e CRY, no início de cada ciclo. À medida que o dia progride, os produtos dos genes PER e CRY acumulam-se no citosol, dimerizam e formam um complexo que sofre translocação para o núcleo, onde interage com CLOCK e BMAL1, reprimindo a sua própria transcrição. Este ciclo de *feedback* dura aproximadamente 24 h e o *turnover* das proteínas PER e CRY, que ocorre durante a noite, é regulado pelos complexos E3 ligase da ubiquitina. A degradação destas proteínas determina o término da inibição do complexo CLOCK-BMAL1, permitindo o início de um novo ciclo (**Fig. 2**) (HONMA, 2018; MOHAWK *et al.*, 2012; POTTER *et al.*, 2016).



**Figura 2 – Organização Molecular do Sistema Circadiano**

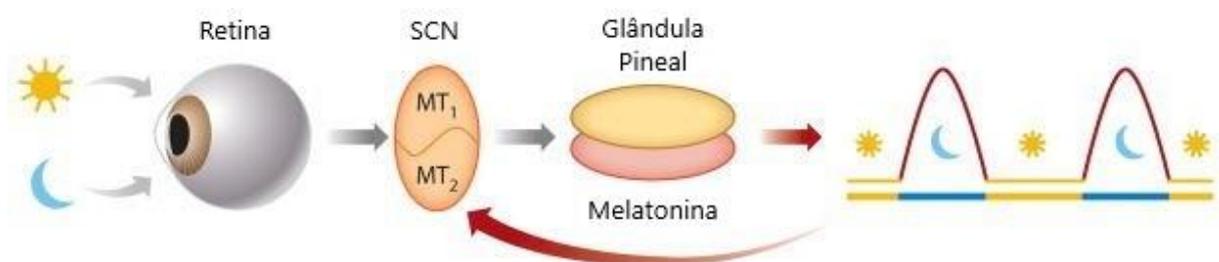
Esquema simplificado dos *loops* de *feedback* de transcrição e tradução. Os fatores de transcrição BMAL1 e CLOCK ativam a expressão dos genes PER e CRY, no início de cada ciclo. As proteínas PER e CRY, que se vão acumulando, originam um complexo que inibe a atividade do BMAL1 – CLOCK e, portanto, a sua própria expressão. Rev-Erb $\alpha$  e ROR representam um *loop* adicional, que fornece estabilidade ao *loop* principal (Adaptado de KONDRATOVA e KONDRATOV, 2012). BMAL1 - brain and muscle-Arnt-like protein-1; CCGs - clock controlled genes; CLOCK - circadian locomotor output cycles kaput; CRY - Cryptochrome; PER - period; REB-ERB $\alpha$  - reverse erythroblastosis vírus; ROR - recetor relacionado com retinoide (“retinoid-related orphan receptor”)

Existem *loops* de *feedback* adicionais interligados com o *loop* CLOCK-BMAL1 / PER-CRY. Entre esses, destaca-se o que envolve o *reverse erythroblastosis virus* (REB-ERB $\alpha$ ) e o recetor relacionado com retinoide (“*retinoid-related orphan receptor*”, ROR), que também são alvos diretos do CLOCK-BMAL1. A ligação ROR ativa a expressão gênica, enquanto a ligação REB-ERB $\alpha$  inibe a transcrição. O próprio REB-ERB $\alpha$  é regulado por um E-Box localizado a montante do seu local de início da transcrição. Os efeitos de *feedback* desse *loop* interferem na transcrição de BMAL1 (e, em menor grau, no CLOCK) para causar uma oscilação antifásica de BMAL1. Estes múltiplos *loops* moleculares interligados fornecem estabilidade e ajuste à periodicidade circadiana. (HONMA, 2018; MOHAWK *et al.*, 2012).

### 3.2. Ritmicidade da Melatonina e a Promoção do Sono

A produção de melatonina pela glândula pineal é o resultado de uma mensagem neuronal que chega à glândula, através de projeções do trato retino-hipotalâmico (REITER, 1993).

A luz é o fator ambiental mais importante para a regulação da síntese de melatonina e é responsável pelo ritmo circadiano da sua secreção (TURNER e MAINSTER, 2008). Os neurónios do SCN inibem ou estimulam a síntese da melatonina em momentos apropriados através de uma via simpática multissináptica, cujo elo final é uma sinapse noradrenérgica do gânglio cervical superior até à glândula pineal. As projeções do gânglio cervical superior libertam noradrenalina para os pinealócitos, durante a noite. A noradrenalina, atuando principalmente através dos recetores adrenérgicos  $\beta$ 1, aumenta os níveis intracelulares de adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (cAMP) nos pinealócitos, conduzindo a um aumento da síntese de melatonina (TUREK e GILLETTE, 2004).



**Figura 3 – Produção de Melatonina pela Glândula Pineal**

A produção rítmica de melatonina pela glândula pineal é controlada pelo ciclo claro-escuro, num período de 24 horas. A melatonina ativa os recetores de melatonina MT1 e MT2 no SCN e tecidos periféricos para regular diversas funções fisiológicas (Adaptado de LIU *et al.*, 2016). MT1 - recetor de melatonina tipo 1; MT2 - recetor de melatonina tipo 2; SCN - núcleo supraquiasmático

A regulação positiva da enzima limitante da síntese (N-acetiltransferase) é direta e imediatamente inibida pelo SCN em resposta à luz. A escuridão, portanto, permite a produção de melatonina durante a fase adequada do ciclo, ou seja, a produção de melatonina exibe um ritmo circadiano, com baixos níveis durante o dia e altos níveis durante a noite (**Fig. 3**) (PANDI-PERUMAL *et al.*, 2007; TURNER e MAINSTER, 2008).

A melatonina exerce as suas ações fisiológicas interagindo com os recetores de melatonina tipo 1 e 2 (MT1 e MT2), ambos pertencentes à superfamília de recetores acoplados à proteína G, contendo os sete domínios transmembranares típicos (CLAUSTRAT e LESTON, 2015). Estes dois subtipos de recetores são responsáveis pela promoção do sono e pelos efeitos circadianos da melatonina, sendo ambos expressos no SCN (PANDI-PERUMAL *et al.*, 2007).

À noite, o aumento do sono ocorre, geralmente, 2h após o início da produção da melatonina, pelo que se pode atribuir a esta hormona um importante papel, enquanto regulador fisiológico do sono (PANDI-PERUMAL *et al.*, 2007).

O sono é um estado caracterizado por padrões alternados de atividade neural, que é controlado por mecanismos homeostáticos e circadianos. Enquanto mecanismos reguladores do sono, esses dois processos são intimamente interativos e interdependentes (BORBÉLY *et al.*, 2016; SAPER *et al.*, 2005). Em geral, o desempenho do sono e da vigília representa comportamentos complexos gerados por uma variedade de estruturas neuroanatômicas, como o hipotálamo do tronco encefálico, tálamo e neocórtex. Em resultado da complexidade subjacente, o mecanismo pelo qual o SCN promove o sono ainda está sob investigação. No entanto, vários estudos sugerem que a melatonina é o principal agente neuroquímico através do qual o SCN regula o sono. Foi, portanto, proposto que a melatonina inibe o mecanismo de geração de vigília circadiana e que esse efeito é mediado pelos recetores MT1 (PANDI-PERUMAL *et al.*, 2007).

Em relação à sua atividade cronobiológica, a melatonina cumpre um duplo papel, comunicando o sinal circadiano do SCN para as células periféricas e regulando, igualmente, a atividade do SCN. Para que qualquer sistema biológico funcione adequadamente, a sincronia em qualquer nível organizacional é essencial. A falha nesta sincronia aumenta a suscetibilidade para o desenvolvimento de doenças. A perda da ritmicidade na produção da melatonina, devido à rutura circadiana, pode levar à assincronia e prejudicar os mecanismos homeostáticos (HOMOLAK *et al.*, 2018).

### 4. Ritmo Circadiano e o Envelhecimento

O envelhecimento é um processo biológico multifatorial, complexo e irreversível que está frequentemente associado ao declínio natural das diversas capacidades físicas e mentais, tornando os organismos suscetíveis a doenças e morte (CARMONA e MICHAN, 2016).

O enfraquecimento funcional do sistema circadiano com a idade é conhecido há muitos anos. O efeito do envelhecimento na atividade dos relógios endógenos tem sido estudado em diferentes organismos modelo, nomeadamente invertebrados, roedores e primatas, sugerindo assim que o efeito do envelhecimento no sistema circadiano é altamente conservado no processo evolutivo (KONDRATOVA e KONDRATOV, 2012).

Com o avanço da idade, o relógio circadiano perde lentamente o seu ritmo. Este fenómeno é um processo gradual e derivativo do inevitável envelhecimento do organismo. O corpo humano perde igualmente as funções de controlo temporal, de coordenação e de sincronia das múltiplas atividades corporais, pressupondo uma desregulação na comunicação entre os diferentes relógios (HOFMAN e SWAAB, 2006).

Estudos usando modelos animais sugerem que as alterações do sistema circadiano, que ocorrem proporcionalmente com a progressão da idade, resultam de mudanças nas propriedades do oscilador circadiano. Em animais mais velhos, o *pacemaker* circadiano oscila mais rapidamente e com uma menor amplitude, quando em comparação com animais mais jovens (MORIN, 1988; SATINOFF *et al.*, 1993).

Como anteriormente mencionado, a retina, através do trato retino-hipotalâmico, é a principal via de entrada para o relógio central. O envelhecimento afeta a receção da informação fótica, por miose pupilar ou amarelecimento das lentes cristalinas, alterando negativa e especificamente a transmissão de luz azul (460 nm), que é o comprimento de onda mais importante para induzir a sincronização circadiana (HOOD e AMIR, 2017a). Um adulto de 55 anos recebe menos de metade da fotorreceção circadiana, quando comparado com um adulto de 25 anos de idade. Este facto produz um enfraquecimento generalizado da entrada de luz ao nível do sistema circadiano. Além disto, os níveis de exposição à luz influenciam o bem-estar geral dos indivíduos, sendo que, indivíduos com baixa exposição à luz e/ou alterações no processo de fototransdução em resultado da senescência dos fotorreceptores, experienciam distúrbios do sono, patologias do foro depressivo e alterações do ritmo circadiano (TURNER e MAINSTER, 2008; TURNER *et al.*, 2010).

Ao nível do SCN as principais alterações associadas ao processo de envelhecimento são a redução do número de neurónios, alteração e/ou redução das sinapses que os conectam e da secreção de neuropeptídeos, designadamente da AVP e VIP (SINGLETARY e NAIDOO, 2011). Assim, cada neurónio individualmente produz um ritmo atenuado que se combina com

a falta de sincronização para gerar uma cronodisfunção. Além da alteração da atividade neuronal, ocorrem alterações bioquímicas e morfológicas do SCN, nomeadamente da atividade hormona-secretora com alterações na ritmicidade da produção de melatonina (TERZIBASI-TOZZINI *et al.*, 2017).

O envelhecimento apresenta ainda repercussões a nível dos *outputs* circadianos, quer por efeito direto do envelhecimento nas células/órgãos efetores, quer por efeito indireto do envelhecimento nas vias de entrada e no *pacemaker* circadiano. As principais alterações observadas são fragmentação do ritmo, diminuição da amplitude e encurtamento do período (TERZIBASI-TOZZINI *et al.*, 2017).

As perturbações do ciclo sono-vigília, que surgem tipicamente em indivíduos mais velhos, representam as primeiras manifestações de alterações da ritmicidade circadiana. Essas perturbações caracterizam-se por um sono noturno menos profundo e com mais despertares, o que interrompe em particular o sono *non-rapid eye movement* (NREM) (CHAUHAN *et al.*, 2017).

Por último, e em contraste com o comportamento geral, foi identificado um grupo de genes que é induzido pelo *stress* oxidativo, denominado *late life cyclers* (LLC), que ganham ritmicidade ou até mostram um ritmo circadiano pela primeira vez em indivíduos idosos, sugerindo a existência de processos que compensam, parcialmente, a deterioração do relógio central. O *stress* oxidativo promove a neurodegenerescência em moscas e murganhos, os LLC podem ser um elo perdido subjacente às observações de que os aumentos do *stress* oxidativo relacionados à idade são exacerbados pela disfunção dos relógios circadianos e que as mutações dos genes relógio aceleram a neurodegenerescência, induzida pelo *stress* oxidativo (KUINTZLE *et al.*, 2017).

#### **5. Desregulação dos Ritmo Circadiano na Doença de Alzheimer – Mudanças Fisiológicas e Neuropatológicas**

Vários estudos avaliaram as alterações neuropatológicas *post-mortem* a nível do SCN, comparando as diferenças entre as alterações, decorrentes do processo de envelhecimento saudável, e as que resultam do envelhecimento associado a demência e doenças neurodegenerativas, revelando que a disfunção associada à DA é muito mais pronunciada e severa (VIDENOVIC *et al.*, 2014).

Os mecanismos pelos quais esta patologia conduz a alterações do ciclo sono-vigília e à rutura circadiana são, provavelmente, multifatoriais. Estes refletem a génese da patologia não só ao nível do SCN, bem como nas vias de entrada (*inputs*) e saída (*outputs*) do relógio

circadiano. Além disso, há evidências de que muitas dessas vias são bidirecionais (SAEED e ABBOTT, 2017).

Vários estudos comprovaram que estas alterações circadianas são preditivas do desenvolvimento do déficit cognitivo e/ou DA, sugerindo que o ritmo circadiano comprometido é um achado pré-clínico e pode até mesmo contribuir para o desenvolvimento da demência (VIDENOVIC *et al.*, 2014).

#### 5.1. Perda Neuronal no SCN

Várias linhas de investigação indicam que o SCN é diretamente afetado pelos processos fisiopatológicos subjacentes à DA e que essas alterações são a causa primária da interrupção do ritmo circadiano nestes doentes. A atrofia, redução do volume e perda de neurónios foi demonstrada em várias observações neuropatológicas. Observaram-se também novos neurofibrilares em neurónios do SCN de doentes com DA avançada, embora as placas amilóides fossem escassas nessa região (STOPA *et al.*, 1999).

No SCN de indivíduos com a DA ocorre diminuição do número de neurónios que expressam VIP, AVP ou neurotensina. Consequentemente, os níveis de AVP são, surpreendentemente, menores na DA e os níveis de mRNA da vasopressina já estão diminuídos no estadió pré-clínico da doença. Como a AVP e a neurotensina são conhecidas por alterarem a função neuronal do SCN, a sua perda durante a DA pode ser uma consequência funcional particular (COOGAN *et al.*, 2013; VIDENOVIC *et al.*, 2014).

#### 5.2. Alterações nos Níveis de Melatonina

A dinâmica da secreção de melatonina tem também sido alvo de estudo, mostrando que as reduções nos níveis totais de melatonina são mais profundas na DA do que no envelhecimento normal (LIN *et al.*, 2013; SKENE e SWAAB, 2003). A ritmicidade dos níveis de melatonina parece desaparecer precocemente – possivelmente na fase pré-clínica da DA, havendo também uma diminuição no número de neurónios que expressam o recetor MT1 mas apenas nas fases mais tardias da doença (COOGAN *et al.*, 2013; WU *et al.*, 2007).

A redução dos níveis noturnos de melatonina, com a perda da sua ritmicidade diurna, pode ser consequência da disfunção da regulação noradrenérgica e depleção da serotonina, precursora da melatonina, pelo aumento da atividade da monoamina oxidase A (MAO A). Outra explicação poderá ter por base predisposições genéticas conhecidas, como a presença da APOE  $\epsilon$ 4, que está associada a um aumento da toxidade A $\beta$ , a uma progressão mais rápida da doença e também está na origem de declínios mais significativos dos níveis de melatonina, quando em comparação com outros subtipos de apolipoproteína. Esta diminuição mostrou

ainda uma correlação com a gravidade do comprometimento mental dos doentes com demência (CARDINALI *et al.*, 2010; PANDI-PERUMAL *et al.*, 2013).

Além disso, a própria melatonina também regula o metabolismo da APP (maturação) e reduz diretamente os seus níveis, evitando a acumulação da A $\beta$ . Isto sugere que a perda de melatonina poderá levar a uma progressão adicional da doença e a um aumento na deposição de A $\beta$  no cérebro (LIN *et al.*, 2013).

Na mesma medida, deve ser ainda realçada a função anti-inflamatória atribuída à melatonina. Um fator comum na patogénese da DA é a ativação da microglia, com consequente expressão de citocinas pró-inflamatórias (LIN *et al.*, 2013). Neste contexto a melatonina reduziu, significativamente, a resposta pró-inflamatória, diminuindo em quase 50% os níveis de IL-6 e TNF- $\alpha$  *in vivo*, citocinas pro-inflamatórias induzidas pelo A $\beta$  (ROSALES-CORRAL *et al.*, 2003). Esta correlação poderá explicar o aumento dos processos neuroinflamatórios com a respetiva redução dos níveis de melatonina na DA.

De acordo com o ritmo circadiano endógeno, a melatonina também promove o sono pela redução da temperatura corporal, via dilatação vascular periférica. A temperatura corporal mais baixa ocorre 1-2 h antes do despertar, geralmente entre as 4-5 h da manhã, o que corresponde à concentração máxima dos níveis circulantes de melatonina, ou seja, a temperatura corporal sobe durante o dia, até atingir o pico no início da noite, depois cai durante toda a noite para chegar ao seu ponto mais baixo no início da manhã. Por conseguinte, as alterações nos níveis de melatonina refletem-se também em mudanças na temperatura corporal. Estudos em indivíduos com DA indicam atraso no pico desse ritmo e diminuição da sua amplitude (HOOD e AMIR, 2017a; WELDEMICHAEL e GROSSBERG, 2010).

#### 5.3. Alterações do Sistema Colinérgico

Outra área que sofre neurodegenerescência na DA e pode ser importante para o distúrbio do ritmo circadiano é o prosencéfalo basal. As células do núcleo basal projetam-se para o SCN, há inervação colinérgica que permite modular o ritmo circadiano, incluindo o ciclo sono-vigília, pelo que, a perda de células colinérgicas tem efeito sobre a ritmicidade circadiana (COOGAN *et al.*, 2013).

Num estudo realizado por ERHARDT *et al.* (2004), lesionaram as projeções colinérgicas do prosencéfalo basal para o SCN em ratos, registou alterações das respostas do relógio biológico aos efeitos da mudança de fase da luz. Sugeriram, igualmente, que a neurodegenerescência associada à DA pode, por sua vez, influenciar a capacidade do sistema circadiano de reagir à captação de sinais.

### 5.4. Perda da Recepção da Informação Fóptica (ipRGCs)

A DA caracteriza-se por morte neuronal com marcada atrofia de áreas cerebrais, que incluem os tecidos da retina e do nervo ótico. A presença de depósitos amilóides difusos na retina de doentes com DA foi descrita em vários estudos *post-mortem*, sustentando que a patogénese desta doença se estende para além dos vasos sanguíneos cerebrais e atinge a retina (FENG *et al.*, 2016).

Quando comparados com indivíduos controlo com a mesma idade, os doentes com DA demonstraram uma perda superior de ipRGCs. Além disso, os demais ipRGCs que ainda estavam presentes apresentaram alterações morfológicas, designadamente, redução do diâmetro dendrítico, o que sugere comprometimento funcional. É de relevar que os doentes com DA não apresentam alteração do número de células ganglionares da retina, apresentando apenas uma diminuição significativa nas células que contêm melanopsina e sugerindo que os ipRGCs são, especificamente, modificados nesta doença. Como resultado, é provável que a capacidade de transmitir o sinal circadiano de luz da retina para o SCN esteja prejudicada na DA (FENG *et al.*, 2016; MORGIA *et al.*, 2016).

### 5.5. Alterações dos Genes Relógio

Considerando o papel relevante desempenhado pelos genes relógio na geração de ritmos circadianos fisiológicos e comportamentais, é de particular interesse investigar em que medida os ciclos de expressão destes genes são afetados na DA (COOGAN *et al.*, 2013).

Interferindo incisivamente na regulação circadiana, o peptídeo A $\beta$  constitui um fator que potencia as perturbações e alterações na expressão génica do relógio circadiano. Para associar um comprometimento fenotípico do ritmo circadiano ao mecanismo molecular dos genes relógio, SONG *et al.* (2015) caracterizaram o papel do A $\beta$  na regulação transcricional, expressão proteica e degradação pós-traducional dos relógios moleculares. Os resultados demonstraram que o A $\beta$  potencia a degradação do BMAL1 e da proteína de ligação ao CREB (CBP), causando alterações na expressão dos genes relógio, como BMAL1 e PER2, e subsequentes mudanças no ritmo circadiano.

Em relação à alteração da expressão dos genes relógio, é de salientar que a PS2, um gene que sofre mutações em casos hereditários da DA, está sob controlo do relógio. A PS2 normalmente cliva a APP, e a sua expressão é ativada pela presença do CLOCK e BMAL1. Isso implica que a rutura circadiana e a alteração do *loop* de transcrição / tradução também podem influenciar a depuração amilóide (BÉLANGER *et al.*, 2006; LEVY-LAHAD *et al.*, 1995; MATTIS e SEHGAL, 2016).

### 6. Alterações do Ciclo Sono – Vigília

A disfunção circadiana na DA pode-se manifestar de várias formas, sendo as mudanças do ciclo sono-vigília as mais notáveis. Os doentes relatam sintomas de insónia, com despertares frequentes e sonolência diurna excessiva. Essas mudanças aumentam com a duração e progressão da doença, levando frequentemente, em estádios mais avançados, a uma inversão do padrão de sono diurno-noturno. Embora as alterações do sono sejam agravadas pela DA, aparecem anos antes do declínio cognitivo e podem ser preditivas de demência (JU *et al.*, 2014; SAEED e ABBOTT, 2017; VIDENOVIC *et al.*, 2014).

Ainda que a deposição A $\beta$  no cérebro seja um dos marcadores patológicos fundamentais na DA e possa instigar as alterações do ciclo sono-vigília, outros fatores contribuirão para o agravar dessas alterações. Medicamentos para comorbilidades comuns, como depressão, hipertensão ou doença cardíaca, também podem perturbar as funções do sono-vigília (JU *et al.*, 2014).

Existem evidências de sugerem que a medicação neuropsiquiátrica pode alterar significativamente a expressão dos genes CLOCK em várias áreas cerebrais. Foi descoberto que o haloperidol, neuroléptico típico, compromete a integridade do ciclo circadiano e deteriora o estado cognitivo em doentes com a DA de início precoce. Essa observação sugere que a tendência conhecida, destes doentes para desenvolverem distúrbios do ciclo sono-vigília pode ser agravada por um neuroléptico clássico. Em contraste, a clozapina, neuroléptico atípico, pode reverter esses distúrbios, estando esse efeito relacionado com a sua capacidade de ligação aos recetores da serotonina do tipo 7 (5-HT<sub>7</sub>), que medeiam os efeitos serotoninérgicos na sensibilidade à luz do SCN (WIRZ-JUSTICE *et al.*, 2001).

Em suma, os declínios no ritmo normal do ciclo sono-vigília e na qualidade do sono são identificados como os sintomas mais disruptivos da DA, tendo um impacto profundamente negativo na qualidade de vida (HOOD e AMIR, 2017b).

#### 6.1. O Sono e o Peptídeo A $\beta$ – Relação Bidirecional

Alguns estudos recentes corroboram que a relação entre os distúrbios do sono e a patogénese da DA é bidirecional. A perturbação do sono parece facilitar a progressão da doença, incluindo a acumulação do peptídeo A $\beta$  e proteína tau. Consequentemente, a patogénese da DA pode comprometer as regiões cerebrais que modulam o ciclo sono-vigília e afetam os neurotransmissores implicados nos processos do sono. A esse respeito, o distúrbio do sono e a patogénese da DA são capturados num ciclo vicioso, pelo qual o distúrbio do sono leva a uma patogénese aumentada da DA o que, por sua vez, exacerba o distúrbio do sono (**Fig. 4**) (KANG *et al.*, 2017).

A libertação do peptídeo A $\beta$  pelos neurónios exhibe oscilações circadianas, aumentando durante o período ativo e diminuindo durante a noite (ROH *et al.*, 2012). Em murganhos transgênicos modelo da DA, a privação do sono acelera a deposição de placas amilóides, enquanto a utilização de fármacos antagonistas da orexina para promover o sono inibe, significativamente, a sua deposição (KANG *et al.*, 2009).

Os mecanismos que determinam de que forma os distúrbios do sono podem precipitar a acumulação de A $\beta$  encontram-se pouco esclarecidos. Uma hipótese é que o A $\beta$  oscila como resultado de oscilações semelhantes na atividade neuronal, sugerindo que o aumento da atividade durante a fase de vigília pode mediar o aumento diurno do A $\beta$ . O sono está associado a um período de hiperpolarização neuronal, sendo por isso de esperar que haja uma menor produção de A $\beta$ . Inversamente, distúrbios do sono resultam em níveis cumulativos mais altos de atividade neuronal e maior produção de A $\beta$  (MUSIEK *et al.*, 2015).

Alterações específicas do sono incluem a perda do sono de ondas lentas (SWS) e do sono *rapid eye movement* (REM). O SWS, que representa o estágio três do sono NREM e é frequentemente chamado de sono profundo, mostrou-se diminuído em idosos, uma característica que é ainda mais enfatizada em pacientes afetados pela DA (PRINZ *et al.*, 1982). Há muito que se sabe que o sono tem uma função restauradora no cérebro e está envolvido na retenção da memória. O SWS, especificamente, provou ser especialmente significativo para a retenção da memória, dado que é a fase na qual a atividade sináptica se encontra mais diminuída, o que se torna mais sustentável e favorável à plasticidade sináptica e à consolidação da memória (VAN SOMEREN *et al.*, 1996; TONONI e CIRELLI, 2006). A esse respeito, o SWS diminuído induz o aumento da atividade sináptica, o que significa que os neurónios estão menos tempo no estado hiperpolarizado, e conseqüentemente há uma maior produção A $\beta$  no (fluido intersticial) ISF cerebral (KANG *et al.*, 2017).

Estudos no modelo APP/PS1 demonstram variação diurna no nível de A $\beta$  solúvel no ISF, que aumenta durante a vigília e diminui durante o sono. Essa variação diurna desaparece com o início do acúmulo de placas amilóides. É importante realçar que a imunização ativa com A $\beta$  antes da deposição impediu a formação de placas amilóides, manteve a variação diurna no nível de A $\beta$  solúvel e os padrões normalizados de sono-vigília neste modelo. Essa observação sugere fortemente que A $\beta$  que se acumula leva às interrupções do sono - vigília neste modelo e, possivelmente, àquelas observadas na DA pré-clínica. Mais estudos são necessários para separar as contribuições desses e de outros fatores para problemas de sono na DA (ROH *et al.*, 2012).

Um outro mecanismo proposto para explicar como os distúrbios do sono podem precipitar a acumulação de A $\beta$  consiste na inibição da eliminação do peptídeo amilóide. O sono parece regular a remoção em massa de proteínas e outras moléculas do cérebro através da regulação do fluxo “glinfático”, um fenômeno recentemente descrito pelo qual os astrócitos facilitam o trânsito de fluido extracelular através do cérebro (ILIFF *et al.*, 2015).

No tecido periférico, os vasos linfáticos retornam o excesso de proteínas intersticiais à circulação geral para degradação no fígado. No entanto, apesar da sua alta taxa metabólica e da fragilidade dos neurônios para os resíduos tóxicos, o cérebro não possui um sistema linfático convencional. Em vez disso, o líquido cefalorraquidiano (LCR) entra no cérebro ao longo dos canais para-arteriais trocando com o ISF que, por sua vez, é eliminado do cérebro ao longo das vias para-venosas, facilitando a depuração eficaz de solutos e resíduos (ILIFF *et al.*, 2013; XIE *et al.*, 2014).

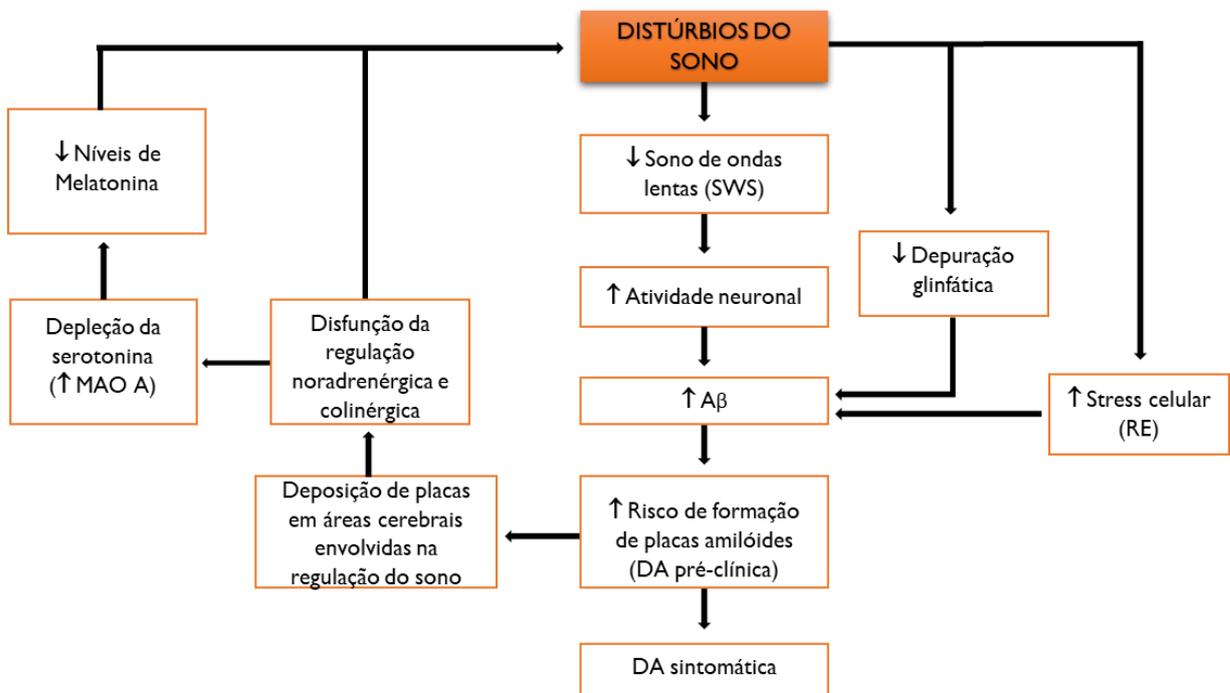
XIE *et al.* (2014), recorrendo a imagiologia cerebral *in vivo*, demonstraram que o sono está associado à melhoria da eficiência do sistema glinfático, com aumento significativo (> 60%) no volume do espaço intersticial, levando à troca aumentada do LCR com o ISF e uma depuração mais eficiente. A hipótese mais aceita é a de que a sinalização adrenérgica no estado de vigília modifica o volume celular e, portanto, o tamanho do espaço intersticial. O bloqueio dos recetores adrenérgicos aumenta o fluxo glinfático, sugerindo que o aumento da produção noradrenérgica, que ocorre durante a vigília, suprime o sistema glinfático, resultando na diminuição da depuração de proteínas patogênicas (A $\beta$ ), o que explica a bidirecionalidade entre as perturbações do sono e a neurodegeneração na DA.

Derivado da eliminação A $\beta$  depender do normal funcionamento da via glinfática, a disfuncionalidade desse sistema depurativo repercute-se na deposição da placa amilóide, o que contribui para a evolução da DA. No entanto, são necessários estudos adicionais para investigar: se o crescente aumento da remoção de resíduos tóxicos, aquando do sono, figura igualmente em humanos; em que medida extensiva o processo se desenrola e, de que maneira, restaurar o sono na DA poderá proporcionar uma recuperação das funcionalidades do sistema glinfático e, por conseguinte, diminuir a progressão da doença (XIE *et al.*, 2014).

Um terceiro mecanismo envolve o aumento do *stress* celular como consequência dos distúrbios do sono. É possível que a privação do sono prejudique a resposta do retículo endoplasmático (RE) ao *stress* celular, originando um enrolamento anómalo e acumulação A $\beta$  (KANG *et al.*, 2017). Qualquer perturbação que altere a homeostase do RE altera o enrolamento de proteínas e leva à acumulação de proteínas desdobradas e agregados de proteínas, que são prejudiciais à sobrevivência celular. Como consequência, as células possuem

mecanismos coordenados para limitar a acumulação e restaurar a função normal do RE, que incluem: i) expressão aumentada de chaperonas; ii) atenuação da tradução de proteínas; iii) aumento da degradação das proteínas desdobradas pelo proteossoma. Essas três respostas são medidas de proteção para reduzir a carga de proteína e aliviar o stress do RE (NAIDOO, 2009).

Não é despropositado especular que os distúrbios do sono causam uma sobrecarga adicional na capacidade de resposta do RE ao stress, já atenuada pela idade, e podem exacerbar a agregação de proteínas (NAIDOO *et al.*, 2008). Mudanças devidas a essa resposta no nível molecular têm sido sugeridas como características comuns em doenças neurodegenerativas, incluindo a DA. De fato, o envelhecimento aumenta os efeitos adversos do distúrbio do sono na promoção do acúmulo de A $\beta$  através de interação sinérgica com mudanças na resposta a nível molecular (KANG *et al.*, 2017).



**Figura 4 – Relação Bidirecional entre os Distúrbios do Sono e a DA**

A perturbação do sono parece facilitar a acumulação beta-amilóide, através da sua eliminação disfuncional, aumento da atividade sináptica e stress celular. Consequentemente a patogênese da doença de Alzheimer pode comprometer as regiões cerebrais que modulam o ciclo sono-vigília e afetam os neurotransmissores implicados nos processos do sono, vinculando uma relação bidirecional (Adaptado de JU *et al.*, 2014).

No contexto da análise da sugerida relação bidirecional e com enfoque nos dados expostos previamente, analisaremos de seguida de forma mais detalhada quais as repercussões do acúmulo A $\beta$  a nível cerebral, designadamente nas regiões reguladoras do sono.

Os centros do sono distribuem-se ao longo de múltiplas estruturas cerebrais, entre as quais o prosencéfalo basal, hipotálamo, tálamo, mesencéfalo, ponte e tronco cerebral, áreas que sofrem degeneração na DA. As perturbações do sono podem resultar da perda de

populações neuronais específicas importantes para a regulação do sono, designadamente a perda de neurónios colinérgicos no prosencéfalo basal ou neurónios noradrenérgicos no locus coeruleus. O SCN é também diretamente afetado pelos processos fisiopatológicos inerentes à DA e que, envolvem atrofia e perda neuronal, as quais se correlacionam com a fragmentação do ritmo circadiano (HOLTH *et al.*, 2017).

Um estudo recente mostrou perda de neurónios no núcleo pré-óptico ventrolateral (VLPO) em pacientes com DA. Os neurónios do VLPO utilizam o neurotransmissor inibitório galanina e estão ativos durante o sono, inibindo os neurónios promotores da vigília pelo que, a perda desses neurónios é um possível mecanismo para a diminuição do sono e aumento dos despertares (LIM *et al.*, 2014; SAPER *et al.*, 2005). Estas observações demonstram uma relação direta entre os mecanismos fisiopatológicos da DA e a degeneração do sono.

Em resumo, as interligações e relações descritas (**Fig. 4**) sustentam o cariz bidirecional e conetivo subjacente à associação clínica entre a DA e os distúrbios do ciclo sono-vigília. Evidências crescentes, fundamentas e robustas indiciam que a disrupção da arquitetura normal do sono pode constituir um indicador precoce de demência e/ou DA, precedendo, inclusivamente a própria formação de placas amilóides. De facto, a fragmentação do sono, com aumento dos períodos de vigília facilita a progressão da doença, incluindo o acúmulo de A $\beta$  que com o tempo leva a um aumento do risco de formação de placa amilóide. Por conseguinte, a deposição de placas em áreas cerebrais envolvidas na regulação do sono, exacerba ainda mais os distúrbios do sono. O conhecimento de que estes distúrbios não são apenas uma consequência do processo da doença na DA, mas também podem preceder o início dos sintomas e podem levar à patologia da doença revela-se bastante promissor.

#### 6.2. Orexina

A orexina é um peptídeo excitatório, expresso no hipotálamo lateral, que regula o ciclo sono-vigília aumentando os níveis de excitação, mantendo a vigília, e está fortemente implicado nos distúrbios do sono (SAPER *et al.*, 2005). A libertação da orexina pelos neurónios hipotalâmicos mostra uma flutuação diurna semelhante à do peptídeo A $\beta$  no ISF cerebral (KANG *et al.*, 2009).

Um largo número de estudos em modelos animais mostrou que a administração de orexina aumenta a vigília e diminui a duração do sono. Nesse sentido, avaliou-se de que forma a administração de orexina modula os níveis de A $\beta$  no ISF. A perfusão de orexina (1,5 pmol/hora) durante 6 h, no início do período de luz, aumentou significativa e rapidamente o tempo de vigília em roedores. Durante a perfusão, os níveis de A $\beta$  no ISF mostraram-se significativamente aumentados quando em comparação com os níveis medidos durante o

período de luz do dia anterior. De forma a perceber de que modo a sinalização endógena da orexina está envolvida na variação diurna dos níveis de A $\beta$  realizou-se outro ensaio utilizando um fármaco antagonista dos recetores da orexina – o almorexant. A administração deste fármaco por um período de 24h suprimiu os níveis de A $\beta$  no ISF e aboliu a variação diurna natural deste peptídeo. Os resultados obtidos permitiram confirmar que a sinalização endógena via recetores da orexina é necessária para o ritmo diurno dos níveis de A $\beta$  (KANG *et al.*, 2009).

Como o ciclo sono-vigília modula os níveis de A $\beta$ , delinearam-se igualmente ensaios de forma a avaliar o impacto da privação crónica do sono na deposição de placas amilóides no cérebro. Em modelos de murganhos transgênicos a restrição crónica do sono de 20 horas diárias durante 21 dias, aumentou marcadamente a deposição de placas amilóides. Posteriormente, o tratamento sistémico com o almorexant uma vez por dia por 8 semanas, permitiu perceber de que forma o bloqueio crónico dos recetores da orexina pode diminuir a deposição de placas amilóide, verificando-se um decréscimo significativo quando em comparação com o controlo (KANG *et al.*, 2009).

Adicionalmente os níveis de orexina no LCR mostraram ainda uma correlação direta com os níveis da proteína tau hiperfosforilada, sugerindo que a desregulação do sistema orexinérgico está relacionada com uma neurodegeneração mais rápida e mais marcada pela tau. A explicação mais aceite é que a maior atividade neuronal mediada pelo aumento da função orexinérgica pode ser responsável pelos níveis mais elevados de proteína tau no LCR encontrados em pacientes com DA (DEUSCHLE *et al.*, 2014).

Em suma, o sono é um estado comportamental complexo cujas funções finais permanecem pouco compreendidas. Distúrbios do sono, além de serem proeminentes em doenças neurodegenerativas, podem exacerbar um processo fundamental que leva à neurodegeneração, e a otimização do tempo de sono pode inibir potencialmente a agregação de proteínas tóxicas e retardar a progressão da DA.

## 7. Relógios Periféricos e Alterações Metabólicas

Os genes relógio supracitados são alvo de expressão não unicamente a nível do SCN mas igualmente noutras regiões cerebrais e tecidos periféricos tais como o pâncreas e o fígado, apresentando neste último um padrão de expressão circadiano robusto (DELEZIE e CHALLET, 2011).

O funcionamento de uma ampla gama de processos metabólicos, como a síntese e degradação de hidratos de carbono, lípidos e proteínas, é alvo de variações à medida que

decorre o ciclo de sono-vigília nos mamíferos. Por exemplo, a síntese de glicogénio no músculo e no fígado ocorre durante o período de vigília, enquanto a glicogenólise no fígado aumenta durante o sono. A sintonia destes ritmos metabólicos contribui benéficamente para o organismo, antecipando e suprimindo as necessidades energéticas do corpo e otimizando o armazenamento de energia e seu respetivo emprego (SATO *et al.*, 2018). Depreende-se por conseguinte que alterações a nível dos relógios centrais terão repercussões deletérias para todo o organismo, interrompendo direta ou indiretamente o funcionamento hormonal, autonômico e metabólico de vários sistemas orgânicos (DELEZIE e CHALLET, 2011).

O sono e as alterações circadianas foram relacionados à disfunção metabólica, que por si só serve como fator de risco para DA (SAEED e ABBOTT, 2017). Há evidências de que as alterações dos relógios circadianos são responsáveis por síndromes metabólicas e alterações nos níveis de glicose e insulina e que, por sua vez, a insulina afeta os níveis de A $\beta$  (TALBOT *et al.*, 2012).

Neste contexto, foi demonstrado que murganhos portadores de uma mutação no gene CLOCK apresentam várias alterações metabólicas incluindo, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, hiperglicemia e hipoinsulinemia. Estas alterações emergem de uma cascata de eventos neuronais iniciados por uma alteração no circuito circadiano sob o controle direto do SCN, em particular ao nível dos ritmos de alimentação. Assim, o desalinhamento da ingestão de alimentos e/ou a quase perda da ritmicidade alimentar podem criar instabilidades metabólicas que levam à hiperfagia e obesidade associadas a irregularidades lipídicas/glicêmicas (TUREK *et al.*, 2013).

Clinicamente, a resistência à insulina está associada ao aumento do risco de desenvolver DA, e a obesidade infantil não é apenas um fator de risco para a diabetes, mas também pode aumentar o risco de desenvolver comprometimento cognitivo em fases posteriores da vida (LUCIANO *et al.*, 2015).

Outras evidências vêm de estudos envolvendo a APOE, um importante regulador do metabolismo lipídico expresso principalmente em astrócitos cerebrais e fígado. O alelo  $\epsilon 4$  prejudica a função mitocondrial, o que pode contribuir para a resistência à insulina e alterações metabólicas e, é também um importante fator de risco para DA (MATTIS E SEHGAL, 2016).

De facto, foi possível demonstrar que os indivíduos diabéticos portadores do alelo  $\epsilon 4$  da APOE apresentam um risco cinco vezes superior de desenvolver DA, quando comparados com aqueles que não têm diabetes nem o alelo  $\epsilon 4$  (PEILA *et al.*, 2002). Portadores jovens deste alelo, apresentam dislipidemia e uma redução do metabolismo da glicose nas mesmas áreas cerebrais que indivíduos idosos com DA. Em conjunto, esses dados sugerem que a disfunção

metabólica periférica contribui para o desenvolvimento da neuropatologia associada à DA (MATTIS E SEHGAL, 2016).

Além disso, outros estudos suportam que a resistência à insulina que ocorre periféricamente na diabetes tipo II também é observada no cérebro de pacientes com DA (TALBOT *et al.*, 2012).

TALBOT *et al.* (2012) mostrou evidências de que os doentes portadores de DA apresentam um padrão de resposta marcadamente reduzido às principais vias de sinalização da insulina, destacadamente ao nível do substrato do recetor da insulina I (IRS-I). Adicionalmente, demonstrou que essa resistência à insulina era consistentemente associada a elevações basais no IRS-I fosforilado na serina 616 (IRS-I pS616) e IRS-I pS636 / 639, considerando-os como candidatos a biomarcadores dessa resistência a nível cerebral. Esses candidatos aumentaram comumente e progressivamente de casos normais para casos com comprometimento cognitivo leve a casos de DA, independentemente da diabetes ou do status de APOE  $\epsilon 4$ . A resistência à insulina no cérebro parece assim ser uma característica precoce e comum da DA, um fenómeno acompanhado pela resistência ao fator de crescimento tipo I derivado da insulina (IGF-I) e estreitamente associado à disfunção do IRS-I potencialmente provocada pelos oligómeros A $\beta$ , e ainda promover o declínio cognitivo de forma isolada da patologia clássica da DA.

#### 8. Dessincronização Circadiana em Modelos Animais

Embora não exista um único modelo animal que mimetize completamente a DA, os modelos animais disponíveis podem fornecer informações valiosas e permitir caracterizações comportamentais e moleculares completas do ponto de vista circadiano (COOGAN *et al.*, 2013).

A identificação de múltiplos genes, intimamente relacionados com a DA, permitiu o desenvolvimento de vários modelos animais enquanto fiáveis mimetizadores da DA em humanos, sendo os murgos os modelos animais mais sobejamente utilizados. Os modelos de animais transgênicos permitem uma maneira fácil e económica de caracterizar as origens celulares e bioquímicas que conduzem às anormalidades observadas nos cérebros com DA. Existem mais de uma dúzia de modelos animais (**Anexo I**), que exibem patologia amilóide a partir da sobreexpressão da APP, mas menos de metade destes expressam mutações de presenilina e/ou taupatas associadas a DA familiar (ELDER *et al.*, 2010).

O modelo animal triplo transgênico da DA (3XTg-DA), que contem 3 mutações (APP<sub>swe</sub>, PSI<sub>M146V</sub>, e tau<sub>P301L</sub>) que foram associadas à DA no homem, exhibe anormalidades na ritmicidade circadiana que precedem alterações patológicas, tornando-o um modelo interessante para o

estudo das interações entre o relógio circadiano, o metabolismo e possíveis conexões com a patologia (STERNICZUK *et al.*, 2010).

O padrão anatómico e temporal de desenvolvimento das lesões neste modelo é análogo ao observado no cérebro de pacientes com DA. As áreas corticais são inicialmente mais afetadas que as regiões subcorticais, como o hipocampo. Os depósitos extracelulares de A $\beta$  são aparentes aos 6 meses no córtex frontal, surgindo apenas no hipocampo aos 12 meses. Em contraste, os agregados de tau são aparentes pela primeira vez no hipocampo, e tornaram-se marcadamente mais difundidos em regiões corticais à medida que os murganhos envelhecem (ODDO *et al.*, 2003).

Em murganhos 3XTg-DA verificaram-se alterações no conteúdo neuropeptídico do SCN (AVP e VIP), achados concomitantes com os resultados dos estudos neuropatológicos *post-mortem* em humanos (STERNICZUK *et al.*, 2010). Adicionalmente, este modelo possibilitou detetar alterações da temperatura corporal, aquando a monitorização deste parâmetro. Efetivamente, uma das características patológicas da DA que poderá estar subjacente às mudanças na temperatura corporal é a neuroinflamação, incluindo a ativação astrocitária e da microglia e, o aumento da produção de citocinas. Fisiologicamente, as citocinas classificam-se enquanto pirogénios endógenos e, por isso, indutores de um aumento da temperatura corporal central, mediado pela libertação de prostaglandinas (PG). Uma vez que a expressão de citocinas pirogénicas, cicloxigenases (COX) e PG no cérebro regista uma elevação na DA, colocou-se a hipótese das PG intervirem no aumento da temperatura corporal evidenciada em murganhos 3xTgAD. Os dados reportados denotam no entanto que, as alterações na temperatura não são dependentes das COX, uma vez que o tratamento com o fármaco ibuprofeno, durante um período de 12 semanas, não surtiu efeito sobre o aumento da temperatura corporal (KNIGHT *et al.*, 2013).

O modelo Tg2576, um dos modelos da DA mais estudados, exhibe patologia amilóide a partir da sobreexpressão da APP e, caracteriza-se por exhibir distrofia neurítica, astrogliose, microgliose e outras alterações inflamatórias cerebrais. Défices progressivos na aprendizagem e memória que estão correlacionados com a deposição A $\beta$  foram igualmente identificados. Dados científicos robustos, validam que a colina acetiltransferase, enzima que catalisa a síntese da acetilcolina, está presente em níveis mais baixos nos doentes com DA e que, as células colinérgicas são particularmente sensíveis aos efeitos neurotóxicos decorrentes da acumulação A $\beta$ . Tais dados são corroborados pelos resultados obtidos dos estudos realizados com o modelo Tg2576, ao qual foram associadas anormalidades colinérgicas, designadamente alterações da expressão génica dos recetores colinérgicos do SCN, sendo por isso de esperar

que exiba alterações dos padrões de sono e défices cognitivos (WISOR *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2005).

O modelo Tg2576 fornece um modelo experimental para estudos da base neuroquímica, anatômica e fisiológica para a interrupção do sono e da transmissão colinérgica na DA (WISOR *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2005).

Em conclusão, os resultados obtidos com recurso a modelos experimentais da DA corroboraram a disfunção circadiana associada à patologia, revelando alterações da temperatura corporal, do ciclo sono-vigília e défices progressivos na aprendizagem e memória. O delineamento dos mecanismos subjacentes à DA por meio desses modelos auxiliará na identificação de alvos terapêuticos e na formulação de novos tratamentos.

#### **9. Diagnóstico da Dessincronização Circadiana na Doença de Alzheimer**

A relação bidirecional estabelecida entre os distúrbios do sono e a DA acrescenta importância à tarefa de identificar com eficiência e precisão a patologia do sono e/ou a disfunção do ritmo circadiano. Isso é relevante em doentes com diagnóstico prévio de DA, cuja deterioração cognitiva pode ser agravada pelos distúrbios do sono, bem como em populações de risco, onde alterações nos padrões de sono e irregularidades nos ritmos de atividade - repouso podem potencialmente ser usadas como marcadores precoces para DA. Esta interligação clínica é univocamente estabelecida, já que foi corroborado que o início dos sintomas mencionados pode preceder o diagnóstico clínico da patologia (HOMOLAK *et al.*, 2018).

A determinação dos níveis plasmáticos de melatonina ou a monitorização da temperatura corporal podem ser usadas para avaliar o ritmo circadiano e, embora estes métodos se tenham revelado inestimáveis na expansão da compreensão dos ritmos biológicos a nível experimental, são muito invasivos e inadaptáveis para o uso corrente na prática clínica. Alternativamente, os *outputs* comportamentais do ritmo circadiano podem ser usados como um parâmetro alternativo facilmente observável, mas relevante (HOMOLAK *et al.*, 2018).

A avaliação dos distúrbios do sono-vigília pode, no entanto, ser dificultada pela ausência de especificidade dos sintomas descritos que, abrangem desde sono reduzido, despertares frequentes ou sonolência diurna a confusão, perambulação ou agressividade. A natureza dessas questões é múltipla, o grau da sua coexistência não é bem documentado, podendo os sintomas estarem associados a mecanismos fisiopatológicos distintos. No entanto, ainda que de forma limitada, estes métodos podem fornecer dados valiosos sobre a progressão da doença, mesmo em estadios iniciais (HOMOLAK *et al.*, 2018).

O recurso à polissonografia (PSG) permite fazer uma avaliação mais objetiva dos padrões de sono, fornecendo informações sobre parâmetros que variam desde a latência do sono e duração, até a frequência cardíaca, saturação de oxigênio, movimentos respiratórios e movimentos dos membros. No entanto, requer que o doente seja observado por um período igual ou superior a 7 dias, tornando este método de diagnóstico dispendioso e bastante impraticável para ser usado (BLACKWELL *et al.*, 2008; MILÁN-TOMÁS e SHAPIRO, 2018; MORGENTHALER *et al.*, 2007).

A actigrafia tem sido também reconhecida como uma ferramenta capaz de diagnosticar distúrbios do sono. A actigrafia envolve o uso contínuo de um dispositivo semelhante a um relógio de pulso, que monitoriza o movimento do corpo por um determinado período de tempo (idealmente, pelo menos uma semana), fornecendo informações sobre os períodos de atividade e inatividade, que são assumidos como correspondendo a períodos de sono e vigília. No entanto, a sua especificidade em discernir pode ser reduzida em pacientes hospitalizados ou acamados, que compreendem uma parcela significativa da população com DA (HOMOLAK *et al.*, 2018; MARTIN e HAKIM, 2011; MORGENTHALER *et al.*, 2007).

## 10. Cronoterapia Aplicada à Doença de Alzheimer

Havendo evidências consideráveis de uma cronodisfunção na DA, abordagens terapêuticas que visem atingir as anormalidades circadianas e resincronizar os relógios endógenos podem fornecer novos caminhos para o tratamento desta patologia.

### 10.1. Fototerapia

A fototerapia na DA parece constituir uma abordagem terapêutica promissora, sustentada na relação que se tem estabelecido entre esta patologia e as disfunções do ciclo sono-vigília, mas que ainda assim apresenta resultados díspares.

Uma vez que o envelhecimento produz um enfraquecimento generalizado da entrada de luz do sistema circadiano, facto ainda mais evidente em pacientes com DA, que tendem a ser menos expostos à luz ambiental, uma “suplementação” com luz pode ser considerada uma terapia potencial para resincronizar o ritmo circadiano nas condições enunciadas (WU E SWAAB, 2007).

De facto, alguns estudos em idosos sugerem que a exposição à luz intensa melhorou uma termorregulação desorganizada, um sistema neuroendócrino interrompido e uma má qualidade do sono. Doentes com DA, cujos ritmos de sono-vigília e atividade de repouso são ainda mais severamente interrompidos, responderam bem ao tratamento de luz brilhante em muitos estudos (WU e SWAAB, 2007).

Um estudo analisou os efeitos da fototerapia na DA revelou melhorias no ciclo sono-vigília, especificamente diminuição do sono diurno e aumento do sono noturno. O estado cognitivo de cada doente foi avaliado com recurso ao Mini Exame do Estado Mental (MMSE) e os distúrbios do ritmo circadiano com recurso à actigrafia, antes e após serem submetidos a 4 semanas consecutivas de terapia (9-11h). Os 27 doentes que integraram o estudo foram divididos em 2 grupos de acordo com a gravidade da demência. Os scores de avaliação da demência clínica permaneceram os mesmos durante todo o estudo, mas os scores do MMSE melhoraram em todos os doentes. Em conclusão, embora a fototerapia não tenha revelado efeitos notáveis na gravidade da demência, resultou em ciclos de sono-vigília significativamente melhores, com aumento percentual do sono noturno e diminuição dos despertares (YAMADERA *et al.*, 2000).

Um outro estudo, realizado por FETVEIT *et al.* (2003), avaliou os efeitos da luz sobre o sono e os ritmos de atividade circadiana em 11 doentes institucionalizados que apresentavam distúrbios do sono. O estudo foi constituído por um período de pré-tratamento, seguido imediatamente por um período de tratamento, cada um com duração de 2 semanas, precedido pelo período de referência de 8 meses. Durante as 2 semanas de tratamento os doentes foram expostos a 2h de luz intensa (6000-8000 lux) pela manhã (8-11h). Os resultados mostraram uma melhoria na eficiência do sono com um aumento médio de 72,9 % para 85,6 %, um decréscimo dos despertares noturnos, e o início do sono diminuiu em 1h quando em comparação com os valores de referência, revelando assim um sono mais consolidado.

No entanto, nem todos os estudos até o momento mostraram um efeito positivo da luz sobre os distúrbios do sono ou do ritmo circadiano daqueles com demência (ANCOLI-ISRAEL *et al.*, 2002; DOWLING *et al.* 2008). Uma explicação para as discrepâncias entre os resultados dos diversos estudos reside no facto de as atuais abordagens terapêuticas não serem uniformizadas em termos de quantidade, espectro, tempo, distribuição e duração. Não obstante, outros fatores externos como os horários de alimentação podem afetar os resultados obtidos uma vez que o ritmo circadiano é também modulado pelos horários de ingestão alimentar (FIGUEIRO, 2017; KENT, 2014).

Visando sistematizar os estudos clínicos sobre o efeito da fototerapia na DA, esquematiza-se a informação apresentada anteriormente na Tabela 2 (**Anexo 2**).

#### **10.2. Terapêutica com Melatonina**

Os efeitos terapêuticos da melatonina sobre diversas patologias (tumores, doenças cardiovasculares e distúrbios psiquiátricos) têm sido alvo de discussão nos últimos anos,

particularmente enquanto nova abordagem terapêutica para tratar distúrbios do ritmo circadiano no envelhecimento e DA (TORDJMAN *et al.*, 2017; WU e SWAAB, 2007).

Para além de contribuir para a regulação do ritmo circadiano, como anteriormente foi descrito, a melatonina desempenha ainda uma vasta variedade de funções fisiológicas de onde se destaca, particularmente, a sua ação imunomoduladora (CLAUSTRAT e LESTON, 2015). Os seus níveis sofrem um decréscimo significativo em função de fatores como a idade ou como a DA pré-clínica, sugerindo que a redução da melatonina é um marcador precoce para os primeiros estadios da doença (LIU *et al.*, 1999; ROSALES-CORRAL *et al.*, 2012).

Alguns estudos têm avaliado o efeito da melatonina no sono, cognição e na progressão da DA. Num estudo, envolvendo um modelo de rato com DA (ratos OXYS), a administração de melatonina mostrou diminuir os níveis de A $\beta$  no hipocampo e córtex frontal. Além disso, quando iniciada nos estadios iniciais da progressão da doença, demonstrou atrasar a degradação do hipocampo. A administração de melatonina poderá, portanto, diminuir a progressão da patologia da DA e servir como uma intervenção importante para limitar a deposição A $\beta$  (RUDNITSKAYA *et al.*, 2015).

O uso da melatonina em doentes com DA poderá ser conveniente, uma vez que estes exibem anormalidades circadianas ao nível do ciclo sono-vigília portanto, a restituição dos níveis de melatonina no cérebro pode ser altamente promissora. Sob outra perspetiva, as propriedades neuroprotetoras atribuídas à melatonina, designadamente a sua atividade *scavenger* das ROS e a capacidade de estimular a síntese de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, glutaciona peroxidase e glutaciona redutase), torna a sua utilização altamente benéfica, perspetivando-se que possa atrasar a progressão da doença (PANDI-PERUMAL *et al.*, 2013).

As evidências clínicas até ao momento sugerem, no entanto, discrepâncias no efeito da melatonina no restabelecimento do ritmo circadiano em doentes com DA. Alguns estudos demonstraram melhorias nos despertares noturnos e nos fenómenos de *sundowning*, que se caracterizam por sinais de agitação, distúrbios emocionais e confusão mental e, surgem tipicamente ao final da tarde. Outros dados mostraram pouco ou nenhum efeito sobre o sono em doentes com DA, corroborando que outros fatores além dos níveis endógenos de melatonina são afetados pela patologia da AD (CARDINALI *et al.*, 2010).

Os resultados controversos que se observam quanto à utilização da melatonina na DA são resultado da variabilidade das doses e duração do tratamento, da gravidade da demência e comorbilidades adicionais nestes doentes, tornando difícil fazer recomendações práticas com base nesses resultados, contudo a melatonina parece beneficiar o tempo total de sono noturno (SAEED e ABBOTT, 2017). Em parte, e em consonância com a informação anteriormente

apresentada, os resultados negativos podem também ser explicados pela redução dos recetores MTI no SCN dos doentes com DA (WU e SWAAB, 2007).

Também deve ser tido em conta que, apesar de possuir algumas propriedades sedativas e redutoras da latência do sono, a melatonina não atua primariamente como um hipnótico, mas principalmente como um cronobiótico (CARDINALI *et al.*, 2010).

#### **II. Considerações Finais e Perspetivas Futuras**

Os últimos anos são pautados por um crescente número de evidências que apoiam uma relação complexa e significativa entre o ritmo circadiano e a DA. Embora numerosas hipóteses tenham sido geradas para explicar a etiologia da DA, ela ainda precisa de ser totalmente elucidada. No entanto, o ritmo circadiano interage com a maioria, se não com todos os sistemas e fatores de risco conhecidos por serem responsáveis pelo desenvolvimento e progressão desta doença. Portanto, representa um alvo interessante para a possível prevenção e tratamento da doença. A relação entre a DA e o ritmo circadiano parece ser bidirecional e o objetivo ideal seria influenciar significativamente a progressão da doença pela intervenção circadiana ou, pelo menos, fornecer um alívio sintomático valioso e reduzir consideravelmente os custos socioeconómicos e o sofrimento.

As atuais terapêuticas que visam resincronizar os relógios endógenos, envolvendo a fototerapia e a melatonina, revelam-se inconclusivas. Contudo, dados os seus efeitos biológicos intrigantes, a melatonina ainda é um candidato interessante a ser explorado neste contexto. É possível que o avanço na investigação do ritmo circadiano e estudos mais robustos focalizados na via e no tempo de administração elucidem algumas das discrepâncias na eficácia da melatonina entre a pesquisa.

As perspetivas futuras direcionam-me para o desenvolvimento de moléculas capazes de atuar diretamente sobre o relógio circadiano, modificando a expressão dos genes e alterando a amplitude, frequência e período das oscilações circadianas. Assim, o direcionamento direto do relógio circadiano pode fornecer uma oportunidade terapêutica única para o tratamento de doenças neurodegenerativas no futuro, sendo este o rumo que a investigação científica poderá traçar.

## 12. Referências Bibliográficas

- AMBRÉE, O.; TOUMA, C.; GÖRTZ, N.; KEYVANI, K.; PAULUS, W.; PALME, R.; SACHSER, N. - **Activity changes and marked stereotypic behavior precede A  $\beta$  pathology in TgCRND8 Alzheimer mice.** *Neurobiology of Aging*. 27,7 (2006) 955–64.
- ANCOLI-ISRAEL, S.; MARTIN, J. L.; KRIPKE, D. F.; MARLER, M.; KLAUBER, M. R. - **Effect of light treatment on sleep and circadian rhythms in demented nursing home patients.** *Journal of the American Geriatrics Society*. 50,2 (2009) 282–289.
- ARENDASH, G. W.; LEWIS, J.; LEIGHTY, R. E.; MCGOWAN, E.; CRACCHIOLO, J. R.; HUTTON, M.; GARCIA, M. F. - **Multi-metric behavioral comparison of APPsw and P301L models for Alzheimer's disease: linkage of poorer cognitive performance to tau pathology in forebrain.** *Brain Research*. 1012, 1-2 (2004) 29–41.
- BALLARD, C.; GAUTHIER, S.; CORBETT, A.; BRAYNE, C.; AARSLAND, D.; JONES, E. - **Alzheimer's disease.** *The Lancet*. 377,9770 (2011) 1019–1031.
- BÉLANGER, V.; PICARD, N.; CERMAKIAN, N. - **The circadian regulation of Presenilin-2 gene expression.** *Chronobiology International*. 23,4 (2006) 747–766.
- BLACKWELL, T. REDLINE, S.; ANCOLI-ISRAEL, S.; SCHNEIDER, J. L.; SUROVEC, S.; JOHNSON, N. L.; CAULEY, J. A.; STONE, K. L. - **Comparison of sleep parameters from actigraphy and polysomnography in older women: The SOF study.** *Sleep*. 31:2 (2008) 283–291.
- BORBÉLY, A. A.; DAAN, S.; WIRZ-JUSTICE, A.; DEBOER, T. - **The two-process model of sleep regulation: A reappraisal.** *Journal of Sleep Research*. 25:2 (2016) 131–143.
- BROOKMEYER, R.; JOHNSON, E.; ZIEGLER-GRAHAM, K.; ARRIGHI, H. M. - **Forecasting the global burden of Alzheimer's disease.** *Alzheimer's and Dementia*. 3,3 (2007) 186–191.
- BUIJS, F.N.; LEÓN-MERCADO, L.; GUZMÁN-RUIZ, M.; GUERRERO-VARGAS, N. N.; ROMO-NAVA, F.; BUIJS, R. M. - **The Circadian System: A Regulatory Feedback Network of Periphery and Brain.** *Physiology*. 31,3 (2016) 170–181.
- CALSOLARO, V.; EDISON, P. - **Neuroinflammation in Alzheimer's disease: Current evidence and future directions.** *Alzheimer's and Dementia*. 12,6 (2016) 719–732.

CARDINALI, D. P.; FURIO, A. M.; BRUSCO, L. I. - **Clinical Aspects of Melatonin Intervention in Alzheimers Disease Progression.** Current Neuropharmacology. 8,3 (2010) 218–227.

CARMONA, J. J.; MICHAN, S. - **Biology of Healthy Aging and Longevity.** Revista de Investigación Clínica. 68,1 (2016) 7–16.

CHAN, M. C.; SPIETH, P. M; QUINN, K.; PAROTTO, M.; ZHANG, H.; SLUTSKY, A. S. - **Circadian rhythms: From basic mechanisms to the intensive care unit.** Critical care medicine. 40,1 (2014) 246–253.

CHAUHAN, R.; CHEN, K. F.; KENT, B. A.; CROWTHER, D. C.- **Central and peripheral circadian clocks and their role in Alzheimer’s disease.** Disease Models & Mechanisms. 10,10 (2017) 1187–1199.

CHISHTI, M. A.; YANG, D. S.; JANUS, C.; PHINNEY, A. L.; HORNE, P.; PEARSON, J.; STROME, R.; ZUKER, N.; LOUKIDES, J.; FRENCH, J.; TURNER, S.; LOZZA, G.; GRILLI, M, KUNICKI S, MORISSETTE C, PAQUETTE J, GERVAIS F, BERGERON C, FRASER P. E.; CARLSON, G. A.; GEORGE-HYSLOP, P. S.; WESTAWAY, D. - **Early-onset amyloid deposition and cognitive deficits in transgenic mice expressing a double mutant form of amyloid precursor protein 695.** Journal of Biological Chemistry 276, 24 (2001) 21562–21570.

CLAUSTRAT, B.; LESTON, J. - **Melatonin: Physiological effects in humans.** Neurochirurgie. 61,2– 3 (2015) 77–84.

COOGAN, A. N.; SCHUTOVÁ, B.; HUSUNG, S.; FURCZYK, K.; BAUNE, B. T.; KROPP, P.; HÄBLER, F.; THOME, J. - **The circadian system in Alzheimer’s disease: Disturbances, mechanisms, and opportunities.** Biological Psychiatry. 74,5 (2013) 333–339.

DELEZIE, J.; CHALLET, E. - **Interactions between metabolism and circadian clocks: Reciprocal disturbances.** Annals of the New York Academy of Sciences. 1243,1 (2011) 30–46.

DEUSCHLE, M.; SCHILLING, C.; LEWEKE, F. M.; ENNING, F.; POLLMÄCHER, T.; ESSELMANN, H., WILTFANG, J.; FRÖLICH, L.; HEUSER, I. - **Hypocretin in cerebrospinal fluid is positively correlated with Tau and pTau.** Neuroscience Letters. 561 (2014) 41–45.

- DIBNER, C.; SCHIBLER, U. - **Circadian timing of metabolism in animal models and humans.** *Journal of Internal Medicine.* 277,5 (2015) 513–527.
- DOWLING, G. A.; BURR, R. L.; VAN SOMEREN, E. J.; HUBBARD, E. M.; LUXENBERG, J. S.; MASTICK, J.; COOPER, B. A. - **Melatonin and Bright-Light Treatment for Rest-Activity Disruption in Institutionalized Patients with Alzheimer’s Disease.** *Journal of the American Geriatrics Society.* 56,2 (2008) 239–246.
- DUDAL, S.; KRZYWKOWSKI, P.; PAQUETTE, J.; MORISSETTE, C.; LACOMBE, D.; TREMBLAY, P.; GERVAIS, F. - **Inflammation occurs early during the A $\beta$  deposition process in TgCRND8 mice.** *Neurobiology Aging* 25,7 (2004) 861–871.
- ELDER, G. A.; GAMA SOSA, M. A.; DE GASPERI, R. - **Transgenic mouse models of Alzheimer’s disease.** *Mount Sinai Journal of Medicine.* 77,1 (2010) 69–81.
- ERATNE, D.; LOI, S. M.; FARRAND, S.; KELSO, W. I.; VELAKOULIS, D. I.; LOOI, J. C. - **Alzheimer’s disease paper I: clinical update on epidemiology, pathophysiology and diagnosis.** *Australian Psychiatry.* 26,4 (2018) 347–357.
- ERHARDT, C.; GALANI, R.; JELTSCH, H.; CASSEL, J. C.; KLOSEN, P.; MENET, J. S; PÉVET, P.; CHALLET, E. - **Modulation of photic resetting in rats by lesions of projections to the suprachiasmatic nuclei expressing p75 neurotrophin receptor.** *European Journal of Neuroscience.* 19:7 (2004) 1773–1788.
- FENG, R.; LI, L.; YU, H.; LIU, M.; ZHAO, W. - **Melanopsin retinal ganglion cell loss and circadian dysfunction in Alzheimer’s disease (Review).** *Molecular Medicine Reports.* 13,4 (2016) 3397–3400.
- FETVEIT, A.; SKJERVE, A.; BJORVATN, B. - **Bright light treatment improves sleep in institutionalised elderly--an open trial.** *International journal of geriatric psychiatry.* 18:6 (2003) 520–526.
- FIGUEIRO, M. G. - **Light, sleep and circadian rhythms in older adults with Alzheimer’s disease and related dementias.** *Neurodegenerative Disease Management.* 7,2 (2017) 119–145.
- FUJIKAKE, N.; SHIN, M.; SHIMIZU, S. - **Association between autophagy and neurodegenerative diseases.** *Frontiers in Neuroscience.* 12 (2018) 1–11.

GÖTZ, J.; CHEN, F.; BARMETTLER, R.; NITSCH, R. M. - **Tau filament formation in transgenic mice expressing P301L tau.** The Journal of Biological Chemistry. 276,1 (2001) 529–534.

HOFMAN, M. A.; SWAAB, D. F. - **Living by the clock: The circadian pacemaker in older people.** Ageing Research Reviews. 5,1 (2006) 33–51.

HOLCOMB, L.; GORDON, M. N.; MCGOWAN, E.; YU, X.; BENKOVIC, S.; JANTZEN, P.; WRIGHT, K.; SAAD, I.; MUELLER, R.; MORGAN, D.; SANDERS, S.; ZEHR, C.; O'CAMPO, K.; HARDY, J.; PRADA, C. M.; ECKMAN, C.; YOUNKIN, S.; HSIAO, K.; DUFF, K. - **Accelerated Alzheimer-type phenotype in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin 1 transgenes.** Nature Medicine. 4,1 (1998) 97–100.

HOLLANDS, C.; TOBIN, M. K.; HSU, M.; MUSARACA, K.; YU, T. S.; MISHRA, R.; KERNIE, S. G.; LAZAROV, O. - **Depletion of adult neurogenesis exacerbates cognitive deficits in Alzheimer's disease by compromising hippocampal inhibition.** Molecular Neurodegeneration. 12,1 (2017) 1–13.

HOLTH, J. K.; PATEL, T. K.; HOLTZMAN, D. M. - **Sleep in Alzheimer's Disease–Beyond Amyloid.** Neurobiology of Sleep and Circadian Rhythms. 2 (2017) 4–14.

HOLTZMAN, D. M.; BALES, K. R.; TENKOVA, T.; FAGAN, A. M.; PARSADANIAN, M.; SARTORIUS, L. J.; MACKAY, B.; OLNEY, J.; MCKEEL, D.; WOZNIAK, D.; PAUL, S. M. - **Apolipoprotein E isoform-dependent amyloid deposition and neuritic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease.** Proceedings of the National Academy of Sciences. 97,6 (2000) 2892–2897.

HOMOLAK, J.; MUDROVČIĆ, M.; VUKIĆ, B.; TOLJAN, K. - **Circadian Rhythm and Alzheimer's Disease.** Medical Sciences. 6,3 (2018) 52.

HONMA, S. - **The mammalian circadian system: a hierarchical multi-oscillator structure for generating circadian rhythm.** Journal of Physiological Sciences. (2018) 1–13.

HOOD, S.; AMIR, S. (2017a) - **The aging clock: Circadian rhythms and later life.** Journal of Clinical Investigation. 127,2 (2017) 437–446.

HOOD, S.; AMIR, S. (2017b) - **Neurodegeneration and the circadian clock.** Frontiers in Aging Neuroscience. 9 (2017) 1–9.

HSIAO, K.; CHAPMAN, P.; NILSEN, S.; ECKMAN, C.; HARIGAYA, Y.; YOUNKIN, S.; YANG, F.; COLE, G. - **Correlative memory deficits, A $\beta$  elevation, and amyloid plaques in transgenic mice.** Science. 274, 5284 (1996) 99–102.

HUITRÓN-RESÉNDIZ, S.; SÁNCHEZ-ALAVEZ, M.; GALLEGOS, R.; BERG, G.; CRAWFORD, E.; GIACCHINO, J. L.; GAMES, D.; HENRIKSEN, S. J.; CRIADO, J. R. - **Age-independent and age-related deficits in visuospatial learning, sleep-wake states, thermoregulation and motor activity in PDAPP mice.** Brain Research. 928,1–2 (2002) 126–137.

ILIFF, J. J.; LEE, H.; YU, M.; FENG, T.; LOGAN, J.; NEDERGAARD, M.; BENVENISTE, H. - **Brain-wide pathway for waste clearance captured by contrast-enhanced MRI.** Journal of Clinical Investigation. 123,3 (2013) 1299–1309.

ILIFF, J. J.; WANG, M.; LIAO, Y.; PLOGG, B. A.; PENG, W.; GUNDERSEN, G. A.; BENVENISTE, H.; VATES, G. E.; DEANE, R.; GOLDMAN, S. A.; NAGELHUS, E. A.; NEDERGAARD, M. - **Paravascular Pathway Facilitates CSF Flow Through the Brain Parenchyma and the Clearance of Interstitial Solutes, Including Amyloid  $\beta$ .** American Journal of Hypertension. 11,3 (2015) 1–12.

IRIZARRY, M. C.; MCNAMARA, M.; FEDORCHAK, K.; HSIAO, K.; HYMAN, B. T. - **APP<sup>Sw</sup> transgenic mice develop age-related A $\beta$  deposits and neuropil abnormalities, but no neuronal loss in CA1.** 56,9 (1997) 965–973.

IRIZARRY, M. C.; SORIANO, F.; MCNAMARA, M.; PAGE, K. J.; SCHENK, D.; GAMES, D.; HYMAN, B. T. - **A $\beta$  deposition is associated with neuropil changes, but not with overt neuronal loss in the human amyloid precursor protein V717F (PDAPP) transgenic mouse.** The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience. 17,18 (1997) 7053–7059.

ISHIHARA, T.; ZHANG, B.; HIGUCHI, M.; YOSHIYAMA, Y.; TROJANOWSKI, J. Q.; LEE, V. M. - **Age-dependent induction of congophilic neurofibrillary tau inclusions in tau transgenic mice.** The American Journal of Pathology. 158,2 (2001) 555–562.

JU, Y. S.; LUCEY, B. P.; HOLTZMAN, D. M. - **Sleep and Alzheimer disease pathology—a bidirectional relationship.** Nature Reviews Neurology. 10,2 (2014) 115–119.

KANG, D. W.; LEE, C. U.; LIM, H. K. - **Role of Sleep Disturbance in the Trajectory of Alzheimer’s Disease.** Clinical psychopharmacology and neuroscience: the official scientific journal of the Korean College of Neuropsychopharmacology. 15,2 (2017) 89–99.

KANG, J. E.; LIM, M. M.; BATEMAN, R. J.; LEE, J. J.; SMYTH, L. P.; CIRRITO, J. R.; FUJIKI, N.; NISHINO, S.; HOLTZMAN, D. M. - **Amyloid- $\beta$  dynamics are regulated by orexin and the sleep-wake cycle.** *Science*. 326,5955 (2009) 1005–1007.

KARRAN, E.; MERCKEN, M.; DE STROOPER, B. - **The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: An appraisal for the development of therapeutics.** *Nature Reviews Drug Discovery*. 10,9 (2011) 698–712.

KELLY, P. H., BONDOLFI, L.; HUNZIKER, D.; SCHLECHT, H. P.; CARVER, K.; MAGUIRE, E.; ABRAMOWSKI, D.; WIEDERHOLD, K. H.; STURCHLER-PIERRAT, C.; JUCKER, M.; BERGMANN, R.; STAUFENBIEL, M.; SOMMER, B. - **Progressive age-related impairment of cognitive behavior in APP23 transgenic mice.** *Neurobiology of Aging*. 24,2 (2003) 365–378.

KENT, B. A. - **Synchronizing an aging brain: Using food-entrainment to slow Alzheimer's disease.** *Frontiers in Aging Neuroscience*. 6 (2014) 1–11.

KNIGHT, E. M.; BROWN, T. M.; GÜMÜSGÖZ, S.; SMITH, J. C.; WATERS, E. J.; ALLAN, S. M.; LAWRENCE, C. B. - **Age-related changes in core body temperature and activity in triple-transgenic Alzheimer's disease (3xTgAD) mice.** *Disease Models & Mechanisms*. 6,1 (2013) 160–170.

KONDRATOVA, A. A.; KONDRATOV, R. V. - **The circadian clock and pathology of the ageing brain.** *Nature Reviews Neuroscience*. 13,5 (2012) 325–335.

KUINTZLE, R. C.; CHOW, E. S.; WESTBY, T. N.; GVAKHARIA, B. O.; GIEBULTOWICZ, J. M.; HENDRIX, D. A. - **Circadian deep sequencing reveals stress-response genes that adopt robust rhythmic expression during aging.** *Nature Communications*. 8 (2017) 1–10.

LAFERLA, F. M.; GREEN, K. N.; ODDO, S. - **Intracellular amyloid- $\beta$  in Alzheimer's disease.** *Nature Reviews Neuroscience*. 8,7 (2007) 499–509.

LEVY-LAHAD, E.; WASCO, W.; POORKAJ, P.; ROMANO, D. M.; OSHIMA, J.; PETTINGELL, W. H.; YU, C. E.; JONDRO, P. D.; SCHMIDT, S. D.; WANG, K.; CROWLEY, A. C.; FU, Y.; GUENETTE, S. Y.; GALAS, D.; NEMENS, E.; WIJSMAN, E. M.; BIRD, T. D.; SCHELLENBERG, G. D.; TANZI, R. E. - **Candidate Gene for the Chromosome 1 Familial Alzheimer's Disease Locus.** *Science*. 269 (1995) 973–977.

LEWIS, J.; DICKSON, D. W.; LIN, W. L.; CHISHOLM, L.; CORRAL, A.; JONES, G.; YEN, S. H.; SAHARA, N.; SKIPPER, L.; YAGER, D.; ECKMAN, C.; HARDY, J.; HUTTON, M.; MCGOWAN, E. - **Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP**. *Science*. 293, 5534 (2001) 1487–1491.

LEWIS, J.; MCGOWAN, E.; ROCKWOOD, J.; MELROSE, H.; NACHARAJU, P.; VAN SLEGTENHORST, M.; GWINN-HARDY, K.; MURPHY M. P.; BAKER, M.; YU, X.; DUFF, K.; HARDY, J.; CORRAL, A.; LIN, W. L.; YEN, S. H.; DICKSON, D. W.; DAVIES, P.; HUTTON, M. - **Neurofibrillary tangles, amyotrophy and progressive motor disturbance in mice expressing mutant (P301L) tau protein**. *Nature Genetics*. 25,4 (2000) 402–405.

LIM, A. S. P.; ELLISON, B. A.; WANG, J. L.; YU, L.; SCHNEIDER, J. A.; BUCHMAN, A. S.; BENNETT, D. A.; SAPER, C. B. - **Sleep is related to neuron numbers in the ventrolateral preoptic/intermediate nucleus in older adults with and without Alzheimer's disease**. *Brain*. 137,10 (2014) 2847–2861.

LIN, L.; HUANG, Q.; YANG, S.; CHU, J.; WANG, J.; TIAN, Q. - **Melatonin in Alzheimer's disease**. *International Journal of Molecular Sciences*. 14,7 (2013) 14575–14593.

LIU, J.; CLOUGH, S.J.; HUTCHINSON, A. J.; ADAMAH-BIASSI, E. B.; POPOVSKA-GOREVSKI, M.; DUBOCOVICH, M. L. - **MT 1 and MT 2 Melatonin Receptors: A Therapeutic Perspective**. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 56:1 (2016) 361–383.

LIU, RY.; ZHOU, J.; VAN, HEERIKHUIZE, J.; HOFMAN, M. A.; SWAAB, D. F. - **Decreased Melatonin Levels in Postmortem Cerebrospinal Fluid in Relation to Aging, Alzheimer's Disease, and Apolipoprotein E-ε4/4 Genotype\***. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 84,1 (1999) 323–327.

LOBO, A.; LAUNER, L. J.; FRATIGLIONI, L.; ANDERSEN, K.; DI CARLO, A.; BRETELER, M. M.; COPELAND, J. R.; DARTIGUES, J. F.; JAGGER, C.; MARTINEZ-LAGE, J.; SOININEN, H.; HOFMAN, A. - **Prevalence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts**. *Neurology*. 54, 11 (2000) S4–9.

LUCIANO R, BARRACO, G. M.; MURACA, M.; OTTINO, S.; SPREGHINI, M. R.; SFORZA, R. W.; RUSTICO, C.; MORINO, G. S.; MANCO, M. - **Biomarkers of Alzheimer Disease, Insulin Resistance, and Obesity in Childhood**. *Pediatrics*. 135,6 (2015) 1074–1081.

- MACDONALD, R.; BARNES, K.; HASTINGS, C.; MORTIBOYS, H.- **Mitochondrial abnormalities in Parkinson ' s disease and Alzheimer ' s disease: can mitochondria be targeted therapeutically?** Biochemical Society Transactions. 46,4 (2018) 891–909.
- MAHLEY, R. W.; HUANG, Y. - **Apolipoprotein E Sets the Stage: Response to Injury Triggers Neuropathology.** Neuron. 76,5 (2012) 871– 885.
- MARTIN, J. L.; HAKIM, A. D. - **Wrist actigraphy.** Chest. 139,6 (2011) 1514–1527.
- MASLIAH, E.; SISK, A.; MALLORY, M.; MUCKE, L.; SCHENK, D.; GAMES, D. - **Comparison of neurodegenerative pathology in transgenic mice overexpressing V717F beta-amyloid precursor protein and Alzheimer's disease.** The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience.16,18 (1996) 5795–811.
- MASTERS, C. L.; BATEMAN, R.; BLENNOW, K.; ROWE, C. C.; SPERLING, R. A.; CUMMINGS, J. L. - **Alzheimer's disease.** Nature Reviews Disease Primers. 1 (2015) 1– 18.
- MATTIS, J.; SEHGAL, A. - **Circadian Rhythms, Sleep, and Disorders of Aging.** Trends in Endocrinology and Metabolism. 27,4 (2016) 192–203.
- MILÁN-TOMÁS, Á.; SHAPIRO, C. M. - **Circadian Rhythms Disturbances in Alzheimer Disease.** Alzheimer Disease & Associated Disorders. 32,2 (2018) 162-171.
- MOHAWK, J.A.; GREEN, C.B.; TAKAHASHI, J.S. - **Central and Peripheral Circadian Clocks in Mammals.** Annual Review of Neuroscience. 35,1 (2012) 445–462.
- MORGENTHALER, T.; ALESSI, C.; FRIEDMAN, L.; OWENS, J.; KAPUR, V.; BOEHLECKE, B.; BROWN, T.; CHESSON, A. J.R.; COLEMAN, J.; LEE-CHIONG, T.; PANCER, J.; SWICK, T.J. - **Practice parameters for the use of actigraphy in the assessment of sleep and sleep disorders: An update for 2007.** Sleep. 30,4 (2007) 519–529.
- MORGIA, C. L; ROSS-CISNEROS, F. N.; KORONYO, Y., HANNIBAL, J.; GALLASSI, R.; CANTALUPO, G.; SAMBATI, L.; PAN, B. X.; TOZER, K. R.; BARBONI, P.; PROVINI, F.; AVANZINI, P.; CARBONELLI, M.; PELOSI, A.; CHUI, H.; LIGUORI, R.; BARUZZI, A.; KORONYO-HAMAQUI, M.; SADUN, A. A.; CARELLI, V. - **Melanopsin retinal ganglion cell loss in Alzheimer disease.** Annals of Neurology. 79,1 (2016) 90–109.
- MORIN, L. P. - **Age-Related Changes in Hamster Circadian Period, Entrainment, and Rhythm Splitting.** Journal of Biological Rhythms. 3,3 (1988) 237–248.

MORRIS, R. G. M.; CHEN, K. S.; KNOX, J.; INGLIS, J.; BERNARD, A.; MARTIN, S.J.; JUSTICE, A.; MCCONLOGUE, L.; GAMES, D.; FREEDMAN, S. B.; MORRIS, R. G. - **A learning deficit related to age and bold beta-amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease.** Nature. 408,6815 (2000) 975–979.

MUSIEK, E.S.; HOLTZMAN, D.M. - **Mechanisms linking circadian clocks, sleep, and neurodegeneration.** Science. 354,6315 (2016) 1004–1008.

MUSIEK, E.S.; XIONG, D.D.; HOLTZMAN, D.M. - **Sleep, circadian rhythms, and the pathogenesis of Alzheimer disease.** Experimental & molecular medicine. 47,3 (2015) e148.

NAIDOO, N. - **Cellular stress/the unfolded protein response: Relevance to sleep and sleep disorders.** Sleep Medicine Reviews. 13:3 (2009) 195–204.

NAIDOO, N.; FERBER, M.; MASTER, M.; ZHU, Y.; PACK A. I. - **Aging Impairs the Unfolded Protein Response to Sleep Deprivation and Leads to Proapoptotic Signaling.** Journal of Neuroscience. 28,26 (2008) 6539–6548.

NORTON, S.; MATTHEWS, F. E.; BARNES, D. E.; YAFFE, K.; BRAYNE, C. - **Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: An analysis of population-based data.** The Lancet Neurology. 13,8 (2014) 788–794.

NTSAPI, C.; LUMKWANA, D.; SWART, C.; DU TOIT, A.; LOOS, B.- **New Insights Into Autophagy Dysfunction Related to Amyloid Beta Toxicity and Neuropathology in Alzheimer's Disease.** International Review of Cell and Molecular Biology. 336 (2018) 321–361.

ODDO, S.; CACCAMO, A.; KITAZAWA, M.; TSENG, B. P.; LAFERLA, F. M. - **Amyloid deposition precedes tangle formation in a triple transgenic model of Alzheimer's disease.** Neurobiology of Aging. 24,8 (2003) 1063–1070.

PANDI-PERUMAL, S. R.; BAHAMMAM, A. S.; BROWN, G. M.; SPENCE, D. W.; BHARTI, V. K.; KAUR, C.; HARDELAND, R.; CARDINALI, D. P. - **Melatonin antioxidative defense: Therapeutical implications for aging and neurodegenerative processes.** Neurotoxicity Research. 23:3 (2013) 267–300.

PANDI-PERUMAL, S. R.; SRINIVASAN, V.; SPENCE, D. W.; CARDINALI D. P. - **Role of the Melatonin System in the Therapeutic Implications.** 21:12 (2007) 995–1018.

PARTCH, C. L.; GREEN, C. B.; TAKAHASHI, J. S. - **Molecular architecture of the mammalian circadian clock.** Trends in Cell Biology. 24:2 (2014) 90–99.

PEILA, R.; RODRIGUEZ, B. L.; LAUNER, L. J. - **Type 2 Diabetes, APOE Gene, and the Risk for Dementia and Related Pathologies.** Diabetes. 51,4 (2002) 1256–1262.

PIACERI, I.; NACMIAS, B.; SORBI, S. - **Genetics of familial and sporadic Alzheimer's disease.** Frontiers in Bioscience. 5 (2013) 166–167.

POTTER, G. D. M.; SKENE, D. J.; ARENDT, J.; CADE, J. E.; GRANT, P. J.; HARDIE, L. J.; - **Circadian rhythm and sleep disruption: Causes, metabolic consequences, and countermeasures.** Endocrine Reviews. 37,6 (2016) 584–608.

PRINCE, M.; BRYCE, R.; ALBANESE, E.; WIMO, A.; RIBEIRO, W.; FERRI, C. P. - **The global prevalence of dementia: A systematic review and metaanalysis.** Alzheimer's and Dementia. 9,1 (2013) 63–75.

PRINZ, P.N.; PESKIND, E.R.; VITALIANO, P.P.; RASKIND, M.A.; EISDORFER, C.; ZEMCUZNIKOV, N.; GERBER, C.J. - **Changes in the sleep and waking EEGs of nondemented and demented elderly subjects.** Journal of the American Geriatrics Society. 30,2 (1982) 86–93.

QIU, C.; KIVIPELTO, M.; VON STRAUSS, E. - **Epidemiology of Alzheimer's disease: Occurrence, determinants, and strategies toward intervention.** Dialogues in Clinical Neuroscience. 11,2 (2009) 111–128.

REITER, R. J. - **The melatonin rhythm: both a clock and a calendar.** Experientia. 49,8 (1993) 654–664.

RODRÍGUEZ, J. J.; VERKHRATSKY, A. - **Neurogenesis in Alzheimer's disease.** Journal of Anatomy. 219,1 (2011) 78–89.

ROH, J. H.; HUANG, Y.; BERO, A. W.; KASTEN, T.; STEWART, F. R.; BATEMAN, R. J.; HOLTZMAN, D. M. - **Disruption of the sleep-wake cycle and diurnal fluctuation of beta-amyloid in mice with Alzheimer's disease pathology.** Sci Transl Med. 4,150 (2012) 150ra122.

ROSALES-CORRAL, S. A.; ACUÑA-CASTROVIEJO, D.; COTO-MONTES, A.; BOGA, J.A.; MANCHESTER, L. C.; FUENTES-BROTO, L.; KORKMAZ, A.; MA, S.; TAN, D. X.; REITER, R. J. - **Alzheimer's disease: Pathological mechanisms and the beneficial role of melatonin.** Journal of Pineal Research. 52,2 (2012) 167–202.

ROSALES-CORRAL, S.; TAN, D. X.; REITER, R. J.; VALDIVIA-VELÁZQUEZ, M.; MARTÍNEZ-BARBOZA, G.; ACOSTA-MARTÍNEZ, J. P.; ORTIZ, G. G. - **Orally administered melatonin reduces oxidative stress and proinflammatory cytokines induced by amyloid-beta peptide in rat brain: a comparative, in vivo study versus vitamin C and E.** *J Pineal Res.* 35,2 (2003) 80–84.

RUDNITSKAYA, E. A.; MURALEVA, N. A.; MAKSIMOVA, K. Y.; KISELEVA, E.; KOLOSOVA, N. G.; STEFANOVA, N. A. - **Melatonin Attenuates Memory Impairment, Amyloid- $\beta$  Accumulation, and Neurodegeneration in a Rat Model of Sporadic Alzheimer's Disease.** *Journal of Alzheimer's Disease.* 47,1 (2015) 103–116.

SAEED, Y.; ABBOTT, S.M. - **Circadian Disruption Associated with Alzheimer's Disease.** *Current Neurology and Neuroscience Reports.* 17,4 (2017).

SANTANA, I.; FARINHA, F.; FREITAS, S.; RODRIGUES, V.; CARVALHO, Â. - **Epidemiologia da Demência e da Doença de Alzheimer em Portugal : Estimativas da Prevalência e dos Encargos Financeiros com a Medicação.** *Acta Medica Portuguesa.* 28,2 (2015) 182–189.

SAPER, C. B.; SCAMMELL, T. E.; LU, J. - **Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms.** *Nature.* 437,7063 (2005) 1257–1263.

SATINOFF, E.; LI, H.; TCHENG, T. K.; LIU, C.; MCARTHUR, A. J.; MEDANIC, M.; GILLETTE, M. U. - **Do the suprachiasmatic nuclei oscillate in old rats as they do in young ones?** *American Journal of Physiology.* 265,5 (1993) R1216–R1222.

SATO, F.; KOHSAKA, A.; BHAWAL, U. K.; MURAGAKI, Y. - **Potential roles of *dec* and *small* genes in interconnecting circadian clock and energy metabolism.** *International Journal of Molecular Sciences.* 19,3 (2018) 1–15.

SCHELTENS, P.; BLENNOW, K.; BRETELER, M. M.; DE STROOPER, B.; FRISONI, G. B.; SALLOWAY, S.; VAN DER FLIER, W. M. - **Alzheimer's disease.** *The Lancet.* 388,10043 (2016) 505–517.

SCHMIDT, T. M.; DO, M.T.; DACEY, D.; LUCAS, R.; HATTAR, S.; MATYNIA, A. - **Melanopsin-Positive Intrinsically Photosensitive Retinal Ganglion Cells: From Form to Function.** *Journal of Neuroscience.* 31,45 (2011) 16094–16101.

SCHULZ, P.; STEIMER, T. - **Neurobiology of circadian systems.** *CNS drugs.* 23 Suppl 2 (2009) 3–13.

SINGLETERY, K. G.; NAIDOO, N. - **Disease and degeneration of aging neural systems that integrate sleep drive and circadian oscillations.** *Frontiers in Neurology.* 2,66 (2011) 1–8.

SKENE, D. J.; SWAAB, D. F. - **Melatonin rhythmicity: Effect of age and Alzheimer's disease.** *Experimental Gerontology.* 38,1– 2 (2003) 199–206.

SONG, H.; MOON, M.; CHOE, H. K.; HAN, D. H.; JANG, C.; KIM, A.; CHO, S.; KIM, K.; MOOK-JUNG I. - **A $\beta$ -induced degradation of BMAL1 and CBP leads to circadian rhythm disruption in Alzheimer's disease.** *Molecular neurodegeneration.* 10 (2015) 13.

STERNICZUK, R.; DYCK, R. H.; LAFERLA, F. M.; ANTLE, M. C. - **Characterization of the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease: Part I.** Circadian changes. *Brain Research.* 1348 (2010) 139–148.

STOPA, E. G.; VOLICER, L.; KUO-LEBLANC, V.; HARPER, D.; LATHI, D.; TATE, B.; SATLIN, A. - **Pathologic evaluation of the human suprachiasmatic nucleus in dementia.** *Journal of neuropathology and experimental neurology.* 58,1(1999) 29–39.

SUZHEN, D.; DUAN, Y.; HU, Y.; ZHAO, Z.- **Advances in the pathogenesis of Alzheimer's disease: a re-evaluation of amyloid cascade hypothesis.** *Translational Neurodegeneration.* 1,1 (2012) 18.

TAKEUCHI, A.; IRIZARRY, M. C.; DUFF, K.; SAIDO, T. C.; HSIAO, A. K.; HASEGAWA, M.; MANN, D. M.; HYMAN, B. T.; IWATSUBO, T. - **Age-related amyloid beta deposition in transgenic mice overexpressing both Alzheimer mutant presenilin 1 and amyloid beta precursor protein Swedish mutant is not associated with global neuronal loss.** *The American Journal of Pathology.* 157,1 (2000) 331–339.

TALBOT, K.; WANG, H. Y.; KAZI, H.; HAN, L. Y.; BAKSHI, K. P.; STUCKY, A.; FUINO, R. L.; KAWAGUCHI, K. R.; SAMOYEDNY, A. J.; WILSON, R. S.; ARVANITAKIS, Z.; SCHNEIDER, J. A.; WOLF, B. A.; BENNETT, D. A.; TROJANOWSKI, J. Q.; ARNOLD, S. E. - **Demonstrated brain insulin resistance in Alzheimer's disease patients is associated with IGF-1 resistance, IRS-1 dysregulation, and cognitive decline.** *J Clin Invest.* 122,4 (2012) 1316–1338.

TERZIBASI-TOZZINI, E.; MARTINEZ-NICOLAS, A.; LUCAS-SÁNCHEZ, A. - **The clock is ticking. Ageing of the circadian system: From physiology to cell cycle.** *Seminars in Cell and Developmental Biology.* 70 (2017) 164–176.

TONONI, G.; CIRELLI, C. - **Sleep function and synaptic homeostasis.** Sleep Medicine Reviews. 10,1 (2006) 49–62.

TORDJMAN, S.; CHOKRON, S.; DELORME, R.; CHARRIER, A.; BELISSANT, E.; JAAFARI, N.; FOUGEROU, C.; - **Melatonin: Pharmacology, Functions and Therapeutic Benefits.** Current Neuropharmacology. 15,3 (2017) 434–443.

TUREK, F. W.; GILLETTE, M. U. - **Melatonin, sleep, and circadian rhythms: Rationale for development of specific melatonin agonists.** Sleep Medicine. 5,6 (2004) 523– 532.

TUREK, F. W.; JOSHU, C.; KOHSAKA, A.; LIN, E.; IVANOVA, G.; MCDEARMON, E.; LAPOSKY, A.; LOSEE-OLSON, S.; EASTON, A.; JENSEN, D. R.; ECKEL, R. H.; TAKAHASHI, J. S.; BASS, J. - **Obesity and Metabolic Syndrome in Circadian Clock Mutant Mice.** Science. 1043,2005 (2013) 3–6.

TURNER, P. L.; MAINSTER, M. A. - **Circadian photoreception: Ageing and the eye's important role in systemic health.** British Journal of Ophthalmology. 92,11 (2008) 1439–1444.

TURNER, P. L.; VAN SOMEREN, E. J. W.; MAINSTER, M. A. - **The role of environmental light in sleep and health: Effects of ocular aging and cataract surgery.** Sleep Medicine Reviews. 14,4 (2010) 269–280.

VAN DAM, D., D'HOOGHE, R.; STAUFENBIEL, M.; VAN GINNEKEN, C.; VAN MEIR, F.; DE DEYN, P. P. - **Age-dependent cognitive decline in the APP23 model precedes amyloid deposition.** European Journal of Neuroscience. 17,2 (2003) 388-296.

VAN SOMEREN, E. J. W.; HAGEBEUK, E. E. O.; LIJZENGA, C.; SCHELTENS, P.; DE ROOIJ, S. E. J. A.; JONKER, C.; POT, A.; MIRMIRAN, M.; SWAAB, D. F. - **Circadian rest-activity rhythm disturbances in Alzheimer's disease.** Biological Psychiatry. 40,4 (1996) 259–270.

VIDENOVIC, A.; LAZAR, A. S.; BARKER, R. A.; OVEREEM, S. - **«The clocks that time us» - Circadian rhythms in neurodegenerative disorders.** Nature Reviews Neurology. 10,12 (2014) 683–693.

VLOEBERGHES, E.; VAN DAM, D.; ENGELBORGHS, S.; NAGELS, G.; STAUFENBIEL, M.; DE DEYN, P. P. - **Altered circadian locomotor activity in APP23 mice: A model for BPSD disturbances.** European Journal of Neuroscience. 20,10 (2004) 2757–2766.

WALSH, D. M.; SELKOE, D. J. - **A $\beta$  oligomers - A decade of discovery.** Journal of Neurochemistry. 101,5 (2007) 1172–1184.

WELDEMICHAEL, D. A.; GROSSBERG, G. T. - **Circadian rhythm disturbances in patients with Alzheimer's disease: A review.** International Journal of Alzheimer's Disease. (2010).

WIRZ-JUSTICE, A.; WERTH, E.; SAVASKAN, E.; KNOBLAUCH, V.; GASIO, P.F.; MÜLLER-SPAHN, F. - **Haloperidol disrupts, clozapine reinstates the circadian rest-activity in a patient with early onset Alzheimer disease.** Alzheimer Disease & Associated Disorders. 15,2 (2001) 101.

WISOR, J. P.; EDGAR, D. M.; YESAVAGE, J.; RYAN, H. S.; MCCORMICK, C. M.; LAPUSTEA, N.; MURPHY, G. M. - **Sleep and circadian abnormalities in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease: A role for cholinergic transmission.** Neuroscience. 131,2 (2005) 375–385.

WU, Y. H.; SWAAB, D. F. - **Disturbance and strategies for reactivation of the circadian rhythm system in aging and Alzheimer's disease.** Sleep Medicine. 8,6 (2007) 623–636.

WU, Y. H.; ZHOU J. N.; VAN HEERIKHUIZE, J.; JOCKERS, R.; SWAAB, D. F. - **Decreased MT1 melatonin receptor expression in the suprachiasmatic nucleus in aging and Alzheimer's disease.** Neurobiology of Aging. 28,8 (2007) 1239–1247.

XIE, L.; KANG, H.; XU, Q.; CHEN, M. J.; LIAO, Y.; THIYAGARAJAN, M.; O'DONNELL, J.; CHRISTENSEN, D. J.; NICHOLSON, C.; ILIFF, J. J.; TAKANO, T.; DEANE, R.; NEDERGAARD, M. - **Sleep drives metabolite clearance from the adult brain.** Science. 342,6156 (2014) 1–11.

YAMADERA, H.; ITO, T.; SUZUKI, H.; ASAYAMA, K.; ITO, R.; ENDO, S. - **Effects of bright light on cognitive disturbances in Alzheimer-type dementia.** Psychiatry and Clinical Neurosciences. 54 (2000) 352–353.

ZHANG, B.; VEASEY, S. C.; WOOD, M. A.; LENG, L. Z.; KAMINSKI, C.; LEIGHT, S.; ABEL, T.; LEE, V. M.; TROJANOWSKI, J. Q. - **Impaired Rapid Eye Movement Sleep in the Tg2576 APP Murine Model of Alzheimer's Disease with Injury to Pedunculopontine Cholinergic Neurons.** The American Journal of Pathology. 167,5 (2005) 1361–1369.

13. Anexos

Tabela I. Alterações do Ritmo Circadiano em Modelos Animais da Doença de Alzheimer

Modelo	Genes (mutações)	Placas A $\beta$	Novelos Neurofibrilares	Idade de Início da Patologia	Fisiopatologia, alterações do sono e/ou ritmo circadiano	Referências
PDAPP	APP V717F	Sim	Não	6 – 8 meses	Défices de memória e aprendizagem, alterações do ciclo sono-vigília, termorregulação e atividade motora	HUITRÓN-RESENDIZ et al., 2002; IRIZARRY et al., 1997; MASLIAH et al., 1996; MORRIS et al., 2000
Tg2576	APP Swe cDNA (695)	Sim	Não	9 – 11 meses	Alterações da expressão génica dos recetores colinérgicos do SCN, sendo por isso de esperar que ocorram alterações dos padrões de sono e défices cognitivos	WISOR et al., 2005; HSIAO et al., 1996; IRIZARRY et al., 1997; ZHANG et al., 2005;
APP23	APP Swe cDNA (751)	Sim	Não	6 meses	Alteração dos neurotransmissores e estruturas cerebrais essenciais para a regulação do ritmo circadiano – perda de neurónios no hipocampo. Agitação noturna e fenómenos de <i>sundowning</i>	KELLY et al., 2003 VAN DAM et al., 2003; VLOEBERGHES et al., 2004;
TgCRND8	APP cDNA Swe e V717F	Sim	Não	3 meses	O ritmo de atividade alterado, sugerindo fragmentação rítmica, e esses efeitos precedem o aparecimento da patologia amilóide	AMBREÉ et al., 2006; CHISHTI et al., 2001 DUDAL et al., 2004;

PSAPP	Tg2576 and PSI M146L	Sim	-	6 meses	HOLCOMB et al., 1998; TAKEUCHI et al., 2000
7TauTg	3R tau	Não	Sim	18 – 20 meses	ISHIHARA et al., 2001
JNPL3	4R tau P301L	Não	Sim	5 meses	ARENDASH et al., 2004 LEWIS et al., 2000;
pR5	4R tau P301L	Não	Sim	8 meses	GÖTZ et al., 2001
TAPP	Tg2576x JNPL3	Sim	Sim	6 meses	LEWIS et al., 2001
3xTg-AD	APP (Swe), PSI (M146V), tau (P301L)	Sim	Sim	3 meses	KNIGHT et al., 2013; ODDO et al., 2003; STERNICZUK et al., 2010;
				<p>Alterações do ritmo circadiano que precedem alterações patológicas. Alterações no conteúdo de neuropeptídeos do SCN (AVP e VIP). Alterações da expressão dos genes relógio.</p>	

Tabela 2. Resumo dos estudos clínicos sobre o efeito da fototerapia na doença de Alzheimer (DA) (Adaptado de FIGUEIRO *et al.*, 2017)

Estudo/ Referência	Objetivo	Participantes	Método/ Protocolo	Resultados
YAMADERA <i>et al.</i> , (2000)	Avaliar os efeitos da luz brilhante na cognição e no ritmo circadiano na DA e outras demências relacionadas (ADRD)	27 adultos (16 mulheres, 11 homens) $\bar{x}$ = 79,9 anos Os sujeitos não tinham "problemas físicos" e não receberam terapêutica farmacológica	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sessão de adaptação de 1 semana, pré-tratamento de 1 semana e sessão de tratamento de 4 semanas com luz (3000 lux) administrada das 09:00 às 11:00;</li> <li>- Os indivíduos foram divididos, tendo por base os critérios da Escala Clínica de Demência (CDR) em 2 grupos: questionavelmente dementes e levemente dementes [n = 10] e moderada e severamente dementes [n = 17];</li> <li>- O estado cognitivo de cada doente foi avaliado com recurso ao Mini Exame do Estado Mental (MMSE) e os distúrbios do ritmo circadiano com recurso à actigrafia, antes e após as 4 semanas.</li> </ul>	O tratamento melhorou os scores do MMSE (especialmente nos estádios iniciais) e os distúrbios do ritmo circadiano, com aumento percentual do sono noturno e diminuição dos despertares. O tratamento com luz não revelou efeitos notáveis na gravidade da demência (não alterou os escores da CDR)
ANCOLI-ISRAEL <i>et al.</i> (2002)	Determinar se o aumento da exposição à luz brilhante melhora os padrões de sono fragmentados em doentes com demência	77 doentes institucionalizados (58 mulheres, 19 homens) $\bar{x}$ = 85,7 ± 7,3 anos Estudo excluiu sujeitos que estavam acamados, que tinham deficiências visuais graves ou eram incapazes de se comunicar	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Indivíduos foram divididos em quatro grupos: luz no período da manhã, luz da noite, luz vermelha fraca à noite (controlo) e restrição de sono durante o dia.</li> <li>- Luz da manhã, luz da noite e grupos de luz fraca à noite foram expostos a 2 h de tratamento de luz todos os dias durante 10 dias.</li> <li>- grupos expostos durante a manhã e noite a luz brilhante de 2500 lux às 09:30-11:30 e 17:30-19:30, respetivamente. Grupo de luz fraca à noite (grupo controlo) foi exposto a &lt;50 lux de luz vermelha 17:30-19:30</li> </ul>	A exposição à luz brilhante (2500 lux) não produziu melhoria significativa no sono noturno e no estado de alerta diurno. Os autores sugeriram que esses resultados negativos se deviam ao nível de demência dos sujeitos. Descobriram, no entanto, que aumentar a exposição à luz matinal tornava o ritmo circadiano de repouso-atividade significativamente mais robusto nessa população

<p>FETVEIT <i>et al.</i>, (2003)</p>	<p>Avaliar os efeitos do tratamento com luz em doentes institucionalizados com demência e distúrbios do sono</p>	<p>11 doentes institucionalizados (10 mulheres, 1 homem); <math>\bar{x}</math> = 86,1 ± 8,9 anos; Eficiência do sono medida via actígrafo &lt;85%. Nenhum indivíduo usou hipnóticos, antipsicóticos ou inibidores da acetilcolinesterase como medicação regular</p>	<p>-Sujeitos serviram como controlo próprio; - Período de pré-tratamento, seguido imediatamente por um período de tratamento, cada um com duração de 2 semanas, precedido pelo período de referência de 8 meses antes; -Durante o tratamento, os doentes foram expostos à luz (6.000 a 8.000 lux) por períodos consecutivos de 2 h durante a manhã (08-11h); -Os padrões sono-vigília foram avaliados por meio de actígrafos de pulso</p>	<p>O sono melhorou substancialmente com o tratamento de luz brilhante, consistentemente entre os sujeitos. Os resultados mostraram uma melhoria na eficiência do sono com um aumento médio de 72,9 % para 85,6 %, um decréscimo dos despertares noturnos e o início do sono diminuiu em 1h quando em comparação com os valores de referência, revelando assim um sono mais consolidado</p>
<p>DOWLING <i>et al.</i> (2008)</p>	<p>Testar se a adição de melatonina à terapia de luz brilhante melhora a eficácia dos tratamentos para a perturbação circadiana em doentes com DA</p>	<p>50 doentes institucionalizados com perturbação circadiana e diagnóstico de AD (43 mulheres, 7 homens) <math>\bar{x}</math> = 86 ± 8 anos Os distúrbios circadianos incluíram insónia, despertares noturnos frequentes e vagar, despertares incommumente matinais, sundowning e sonolência diurna excessiva. Estudo excluiu sujeitos com outros diagnósticos neurológicos.</p>	<p>-Indivíduos divididos em três grupos: luz brilhante mais melatonina à noite (LM, 16 indivíduos), luz brilhante mais placebo noturno (LP, 17 indivíduos) e apenas luz interna usual (controlo, 17 indivíduos) estudo de 11 semanas incluiu dados de linha de base de 1 semana período de coleta e período de intervenção de luz brilhante de 10 semanas. -Os grupos LM e LP receberam luz brilhante (&gt; 2500 lux) das 9: 30-10: 30 durante a semana, e foram administrados 5 mg de melatonina (LM) ou placebo (LP) às 17: 00-18: 00, com hora de dormir às 20:00.</p>	<p>Os autores não encontraram nenhum efeito do tratamento com luz isoladamente no sono noturno, vigília diurna ou ritmo de repouso-atividade, mas foram capazes de demonstrar um aumento na vigília diurna e níveis de atividade com a administração concomitante de melatonina oral.</p>