



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Ana Catarina Cerejeira Silva

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Alterações epigenéticas desencadeadas pelo stress e depressão materna durante a gravidez” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação do Dr. Pedro Manuel Esteves de Almeida Simões, da Dra. Olga Simões e da Professora Doutora Catarina Alexandra dos Reis Vale Gomes apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2022



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Ana Catarina Cerejeira Silva

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada "Alterações epigenéticas desencadeadas pelo stress e depressão materna durante a gravidez" referentes à Unidade Curricular "Estágio", sob a orientação do Dr. Pedro Manuel Esteves de Almeida Simões, da Dra. Olga Simões e da Professora Doutora Catarina Alexandra dos Reis Vale Gomes apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

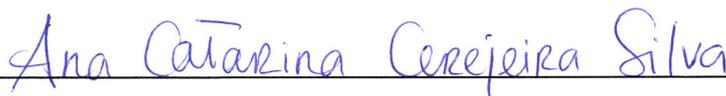
Setembro de 2022

Declaração de Honra

Eu, Ana Catarina Cerejeira Silva, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2017250639, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Alterações epigenéticas desencadeadas pelo *stress* e depressão materna durante a gravidez” 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 2022.



(Ana Catarina Cerejeira Silva)

Agradecimentos

A realização dos relatórios de estágio bem como da monografia devem-se ao meu foco e dedicação, mas também às pessoas mais importantes da minha vida, sem as quais não seria possível conseguir alcançar os meus objetivos. Demonstraram apoio incondicional ao longo de todo o curso, sendo fulcrais no caminho construído nestes últimos cinco anos.

Agradeço a toda à minha família, destacando os meus pais pelo apoio incondicional ao longo de todo o meu percurso académico. É graças a eles que consegui ultrapassar todos os obstáculos ao longo do curso, sem nunca desistir. Obrigada pela compreensão, incentivo, paciência e amor. Sem vocês nada disto seria possível.

Agradeço aos meus amigos, por estarem sempre presentes em todos os momentos importantes, pelo apoio incondicional e amizade.

Um obrigado não chega para agradecer à família que criei na faculdade. À Catarina Batista, à Catarina Silva, à Filipa, à Margarida, à Rute Carvalho, à Rute Lourenço e à Sara um obrigado gigante por todos os momentos vividos durante estes cinco anos. Foram os meus pilares ao longo desta grande aventura.

Agradeço à minha orientadora Professora Doutora Catarina Gomes pela ajuda e disponibilidade na realização da monografia.

Um obrigado ao Dr. Pedro Simões, à Sra. Ângela Garcia e à Sra. Sandra Pereira por toda a simpatia e disponibilidade com que me receberam na farmácia, por todos os ensinamentos e aprendizagens que me transmitiram.

Um obrigado à Dra. Olga Simões e a toda equipa da plural+udifar pelo carinho e boa disposição de boas-vindas e por todos os ensinamentos.

A todos muito obrigado!

Índice

Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas.....	9
Introdução.....	10
1. Farmácia Frota Carvalho.....	11
2. Análise SWOT.....	12
2.1 Pontos Fortes.....	13
2.1.1 Variedade de Suplementos Alimentares.....	13
2.1.2 Rede Elo Farma.....	14
2.1.3 Equipa Técnica.....	15
2.1.4 Serviços Farmacêuticos Prestados.....	15
2.2 Pontos Fracos.....	15
2.2.1 Inexperiência e insegurança no atendimento ao público.....	15
2.2.2 Desconhecimento dos nomes das marcas comerciais dos MSRM.....	16
2.2.3 Testagem COVID-19.....	16
2.3 Oportunidades.....	17
2.3.1 Formações.....	17
2.3.2 Aumento do número de serviços disponibilizados.....	17
2.4 Ameaças.....	18
2.4.1 Medicamentos Esgotados.....	18
2.4.2 Receitas Manuais.....	18
2.4.3 Credibilidade dos estagiários.....	19
3. Casos Clínicos.....	19
3.1 Caso Clínico A – Pediculose.....	19
3.2 Caso Clínico B – Congestão nasal.....	20
3.3 Caso Clínico C – Zurim® 100 mg vs. Alopurinol ratiopharm 100 mg.....	21
3.4 Caso Clínico D – Dor de dentes.....	21
3.5 Caso Clínico E – Picada de Inseto.....	21
Conclusão.....	23
Bibliografia.....	24

Parte II - Relatório de Estágio em Distribuição Farmacêutica

Lista de Abreviaturas.....	26
Introdução.....	27
I. Análise SWOT.....	28
I.1 Pontos Fortes.....	29
I.1.1 Serviços prestados com a máxima eficácia e garantia de qualidade.....	29
I.1.2 Relação de confiança estabelecida com as farmácias.....	30
I.1.3 Regra do "first in, first out".....	30
I.1.4 Excelente receção de estagiários.....	31
I.2 Pontos Fracos.....	31
I.2.1 Ausência da relação entre farmacêutico e utente.....	31
I.2.2 Rotina.....	31
I.3 Oportunidades.....	32
I.3.1 Aquisição de conhecimentos aplicáveis em Farmácia Comunitária.....	32
I.3.2 Acompanhar a implementação do método KAIZEN.....	32
I.4 Ameaças.....	33
I.4.1 Dependência de fatores externos.....	33
I.4.2 Poucos farmacêuticos.....	33
Conclusão.....	34
Bibliografia.....	35

Parte III – Monografia - "Alterações epigenéticas desencadeadas pelo *stress* e depressão materna durante a gravidez"

Resumo.....	37
Abstract.....	38
Lista de Abreviaturas.....	39
Introdução.....	40
1. Depressão materna durante a gravidez.....	41
2. Eixo hipotálamo-pituitária-adrenal	43
3. Relação entre a desregulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal e a depressão materna.....	44
4. Barreiras protetoras do feto contra os glucocorticoides.....	44

5. Alteração de mecanismos epigenéticos pela depressão materna durante a gravidez.....	46
5.1 Epigenética.....	46
5.2 Reprogramação epigenética.....	46
5.3 Impacto da epigenética ambiental durante a gravidez.....	47
5.4 Influência da metilação do DNA na expressão genética	48
5.5 Modificação enzimática de histonas.....	49
6. Genes candidatos a alterações epigenéticas.....	51
6.1 Gene codificador dos recetores glucocorticoides, NR3C1	51
6.2 Gene codificador da proteína de ligação FK506 5, FKBP5.....	52
6.3 Gene codificador da 11- β -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 2, HSD11B2.....	53
6.4 Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro, BDNF.....	53
7. Impacto das alterações epigenéticas na saúde da descendência.....	54
8. Modelos animais.....	56
Conclusão.....	58
Bibliografia.....	59

PARTE I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária



Farmácia Frota Carvalho

Lista de Abreviaturas

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamento(s) Não Sujeito(s) a Receita Médica

MSRM – Medicamento(s) Sujeito(s) a Receita Médica

SWOT – (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*) – Pontos Fortes, Pontos Fracos, Oportunidades, Ameaças

Introdução

A profissão farmacêutica tem um papel importantíssimo na sociedade, sendo que o ramo com maior representatividade é o da farmácia comunitária. A educação e promoção de saúde é uma das missões que o farmacêutico desempenha na sociedade, sendo que é cada vez mais cumprida devido à expansão e ganho de prestígio da profissão. Os farmacêuticos, enquanto especialistas do medicamento, desempenham um papel fundamental no bem-estar e cuidado da população. No atendimento ao público, o papel do farmacêutico no ato do aconselhamento farmacêutico torna-se fundamental na promoção à saúde, bem como no estabelecer de relações de confiança. Este ato exige uma comunicação adequada com o utente, de forma a recolher o máximo de informação possível, no que diz respeito às queixas, sintomas e duração dos mesmos por parte do utente, permitindo assim o melhor aconselhamento possível. É esta proximidade e conexão estabelecida com o utente, que faz com que a farmácia comunitária seja, muitas vezes, o primeiro local ao qual os utentes recorrem para pedir ajuda nos mais diversos cenários.

Ao longo dos cinco anos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) adquiri formação multidisciplinar muito importante para o exercício da profissão. No estágio curricular em farmácia comunitária tive a oportunidade de pôr os conhecimentos em prática e consolidá-los nas mais diversas situações. Este estágio decorreu na Farmácia Frota Carvalho, em Vila Nova do Ceira, sob a orientação do Diretor Técnico e farmacêutico Dr. Pedro Simões, desde 10 de janeiro de 2022 até 29 de abril de 2022. O estágio curricular em farmácia comunitária é um enorme desafio para os estudantes, uma vez que é o primeiro contacto que ocorre com os utentes e onde se colocam em prática os conhecimentos técnico-científicos adquiridos ao longo do curso. Tornam-se os primeiros passos num longo caminho que nos irão tornar futuros farmacêuticos, competentes e capazes de estar à altura dos desafios da profissão.

Neste estágio em farmácia comunitária desempenhei diversas tarefas, nomeadamente receção de encomendas, atendimento ao público, verificação de prazos de validade, medição de parâmetros fisiológicos e bioquímicos, organização de lineares e conferência do receituário.

O presente relatório tem por objetivo uma breve descrição da farmácia Frota Carvalho e a elaboração de uma análise SWOT fundamentada – *Strengths* (Pontos Fortes), *Weaknesses* (Pontos Fracos), *Opportunities* (Oportunidades), *Threats* (Ameaças) – relativa à frequência do estágio. Adicionalmente, serão descritos casos clínicos que presenciei durante o atendimento ao público e com os quais adquiri competências novas para o futuro da profissão.

I. Farmácia Frota Carvalho

A Farmácia Frota Carvalho encontra-se localizada em Vila Nova do Ceira, no Largo da Igreja, no concelho de Góis, distrito de Coimbra. O horário de funcionamento durante a semana é das 9h às 19h, com uma pausa de almoço das 13h às 14h. Aos sábados encerra uma hora mais cedo, ou seja, às 18h, com a mesma pausa de almoço, e aos domingos encerra.

A Farmácia Frota Carvalho é constituída por uma equipa competente e organizada, que conta com mais de 60 anos de serviço quando combinados todos os anos de profissão de cada um dos membros. De forma a prestar os melhores cuidados e serviços aos seus utentes a equipa é constituída pelo Diretor Técnico e farmacêutico Dr. Pedro Simões e pelas técnicas de farmácia Sra. Ângela Garcia e Sra. Sandra Pereira.

Quando iniciei o meu estágio, a farmácia tinha sido sujeita a obras recentemente, o que fez melhorar e aproveitar o espaço disponível. Desta forma, a farmácia estava disposta em quatro áreas distintas, sendo a primeira o local de atendimento ao público, bastante amplo e luminoso, constituído por três balcões de atendimento separados entre si por lineares. Esta disposição permite que o atendimento se torne o mais individualizado possível, dando, desta forma, uma maior segurança e privacidade ao utente. Nestes lineares estão expostos vários produtos com uma estratégia de *marketing* por trás, nomeadamente solares, perfumes e outros dermocosméticos, fazendo com que haja uma rotação dos mesmos. Isto permite aos utentes conhecer os diferentes produtos sazonais e outros que a farmácia tem ao seu dispor, tornando a sua venda mais fácil. Um exemplo desta situação foi a mudança de posição de produtos da marca Puresentiel[®], nomeadamente óleos essenciais e difusores/humidificadores de aromas. Assim que estes produtos foram colocados entre os balcões, as suas vendas dispararam drasticamente.

Em seguida, na zona de armazenamento, estão guardados em gavetas deslizantes e por ordem alfabética os Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM), o que facilita o atendimento ao público. Os comprimidos e cápsulas estão separados em medicamento de marca comercial e em medicamentos genéricos. Todas as outras formas farmacêuticas, descongestionantes nasais, carteiras, soluções orais, supositórios, pomadas, cremes, suspensões, ampolas e emplastos, estão organizadas consoante a sua forma farmacêutica e também por ordem alfabética. Os excessos, ou seja, MSRM que não cabem nas gavetas deslizantes ou os Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM) que não cabem nos lineares, são guardados em armários, numa segunda zona de armazenamento. Para além disto, ainda existe um armário destinado ao armazenamento de medicamentos de uso veterinário e

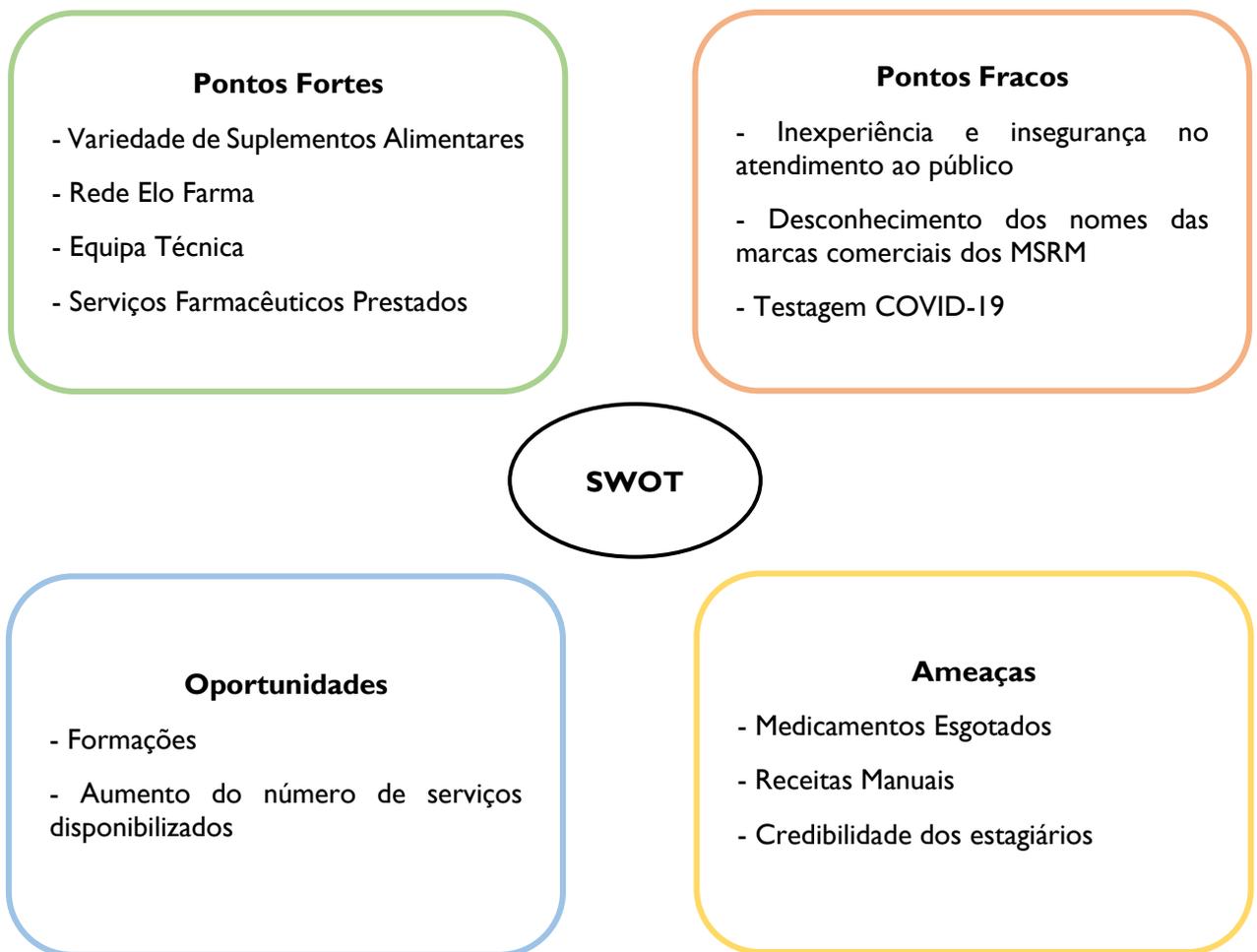
um frigorífico para produtos que necessitam de estar a uma temperatura controlada, entre os 2°C e 8°C.

A farmácia dispõe ainda de um gabinete, onde é realizado o atendimento privado. Este atendimento privado e personalizado permite criar um ambiente mais seguro e confortável, de modo a que os utentes se sintam mais confortáveis em confidenciar as suas dúvidas e problemas. Este local também é utilizado para a administração de injetáveis, medição de parâmetros bioquímicos (glicémia, colesterol total) e fisiológicos (pressão arterial), consultas de nutrição, consultas de podologia e consultas de dermocosmética com conselheiras de diversas marcas.

A zona de *backoffice* é o local que envolve toda a logística da farmácia, desde a receção e envio de encomendas diariamente, à conferência do receituário, devolução e conferência de produtos. É também feita a preparação de fórmulas orais líquidas.

2. Análise SWOT

O presente relatório tem por objetivo a elaboração de uma análise SWOT – *Strengths* (Pontos Fortes), *Weaknesses* (Pontos Fracos), *Opportunities* (Oportunidades), *Threats* (Ameaças) – relativa à frequência do estágio. Esta análise pode ser realizada tanto a nível interno (Pontos Fortes e Pontos Fracos), quanto a nível externo (Oportunidades e Ameaças). A nível interno é feita a identificação e avaliação de fatores que constituíram vantagens ou desvantagens durante o estágio. Já a nível externo é feita a identificação e avaliação de fatores dos quais a farmácia não tem controlo, mas que não devem ser desvalorizados. Aliás, devem ser monitorizados constantemente através de um delineamento estratégico, de forma a minimizar os erros.



Quadro I - Resumo dos pontos mencionados na análise SWOT.

2.1 Pontos Fortes

2.1.1 Variedade de Suplementos Alimentares

Os Suplementos Alimentares (SA) são “géneros alimentícios que se destinam a complementar ou suplementar o regime alimentar normal e que constituem fontes concentradas de nutrientes ou outras substâncias com efeito nutricional ou fisiológico, comercializadas em forma doseada e que se destinam a ser tomadas em unidades de medida de quantidade reduzida” (Decreto-Lei n.º 118/2015, de 23 de junho – DRE).

Durante o estágio, vários utentes procuravam SA, no sentido de os ajudar a complementar o seu regime alimentar, mas também para situações de fadiga física e mental, distúrbios do sono, dor abdominal, pirose e diarreia. Tendo em conta que o estágio foi realizado numa altura de pandemia, devido ao vírus SARS-CoV-2, as pessoas que contraíam o vírus, testando positivo, ficavam sem saber o que poderiam tomar para combater a infeção. Para fortalecer o sistema imunitário aconselhei suplementos à base de equinácea e vitamina

C, sendo esses mesmos suplementos já estudados no âmbito pandémico vivido, no sentido de baixar a carga viral no organismo.

O facto de a Farmácia Frota Carvalho ter uma vasta gama de SA faz com que se torne uma vantagem enorme, uma vez que muitas pessoas se dirigem à farmácia à procura deste tipo de produtos e também pelo facto de cada vez mais haver a adoção de estilos de vida direccionados ao consumo de produtos com uma base o mais natural possível para diversas patologias.

Uma situação bastante frequente é a deslocação dos utentes à farmácia com prescrições médicas de antibióticos. No caso da prescrição de fosfomicina, usada para o tratamento de infeções urinárias, tinha o cuidado de questionar a pessoa se a situação era recorrente, alertando-a para o facto de existirem SA à base de arando vermelho e uva ursina que auxiliam na prevenção de reincidências de infeções urinárias. Para além disso, o aconselhamento da ingestão de bastante água, bem como um produto de higiene íntima específico são complementos chaves para a resolução deste tipo de situações clínicas.

Desta forma, devido à variedade de SA existentes na Farmácia Frota Carvalho foi possível realizar vários *cross-selling*, tendo a certeza que o utente iria ficar satisfeito com o atendimento e, ao mesmo tempo, aumentar as vendas deste tipo de produtos para a farmácia.

Contudo, um aspeto importante no aconselhamento e cedência deste tipo de produtos é questionar sempre a pessoa acerca de possíveis patologias, comorbilidades e medicação que faça. Muitos utentes têm o ideal de que “o que é natural é que é bom”, não sabendo que podem ocorrer interações medicamentosas com os seus medicamentos. Desta forma, é importantíssimo questionar e alertar para este tipo de situações.

2.1.2 Rede Elo Farma

A Farmácia Frota Carvalho está inserida num grupo chamado Rede Elo Farma. A Rede Elo Farma tem como objetivo criar as melhores soluções e oportunidades para as farmácias. Para além de serem uma rede intermediária na negociação de melhores condições comerciais entre os seus parceiros e as farmácias, dispõem de um apoio diferenciado, criando serviços capazes de acrescentar valor às farmácias e, dessa forma, melhorar a qualidade de vida dos seus utentes.

A inserção da Farmácia Frota Carvalho neste grupo traz imensas vantagens no que diz respeito à obtenção de certos produtos. Por exemplo, no início do estágio, a procura por testes rápidos de antigénio para a deteção da infeção COVID-19 era astronómica. Muitas farmácias não conseguiam obter estes testes, não satisfazendo as necessidades da população.

Esse não foi o caso da Farmácia Frota Carvalho. O facto de estar inserida na Rede Elo Farma, permitiu que o produto em questão não faltasse, numa altura em que a procura era imensa e urgente num contexto de pandemia, com o número de novos casos de pessoas infetadas pelo vírus SARS-CoV-2 a aumentar drasticamente em todo o país.

2.1.3 Equipa Técnica

A equipa técnica da Farmácia Frota Carvalho é, sem dúvida, uma equipa coesa e responsável, que tem como principal objetivo o bem-estar dos seus utentes. A integração nesta equipa foi bastante fácil, tendo em conta a simpatia, profissionalismo e apoio recebido durante toda a frequência do estágio. Considero que foi um ponto bastante forte ao longo do meu estágio, uma vez que uma equipa unida é fundamental para dar as melhores respostas aos seus utentes. O à vontade demonstrado em tirar todas as dúvidas que pudessem surgir, nomeadamente, no atendimento ao público, foi fundamental na minha adaptação. Sem dúvida que toda a equipa contribuiu para o enriquecimento dos meus conhecimentos, os quais serão muito importantes para o exercício da minha futura profissão, mas também a nível pessoal, com a confiança e amizade que transmitiram.

2.1.4. Serviços Farmacêuticos Prestados

Os serviços farmacêuticos prestados pela Farmácia Frota Carvalho têm como objetivo responder às necessidades e zelar pelo bem-estar dos seus utentes. Durante o período do estágio tive a oportunidade de observar e realizar a determinação de parâmetros fisiológicos e bioquímicos, como a medição da pressão arterial, da glicémia e do colesterol total. Nos diferentes rastreios e tendo em conta os resultados obtidos tive o cuidado de questionar os utentes sobre os estilos de vida praticados, se tomavam ou não medicação, aconselhando medidas não farmacológicas para melhorar os parâmetros medidos em questão. Este tipo de serviços foi bastante importante para a aplicação dos conhecimentos técnico-científicos adquiridos ao longo do MICEF.

2.2 Pontos Fracos

2.2.1 Inexperiência e insegurança no atendimento ao público

No início do estágio, os primeiros atendimentos ao balcão foram uma fonte de ansiedade e preocupação por diversos motivos. O medo de errar, a demora na realização do

atendimento, o não ter resposta para as dúvidas que pudessem surgir por parte dos utentes, constituíram obstáculos a ultrapassar ao longo do estágio. A falta de prática, quer ao nível da plataforma usada na gestão e atendimento da farmácia, o Sifarma®, quer no aconselhamento farmacêutico, fez com que inicialmente quisesse desempenhar todas as funções ao mesmo tempo, acabando por me deixar nervosa. Contudo, com a ajuda da equipa técnica, facilmente consegui superar estes obstáculos e passei a enfrentar e considerar cada atendimento como uma nova aprendizagem e uma nova oportunidade de consolidar e pôr em prática os conhecimentos técnico-científicos adquiridos no MICEF, focando-me cada vez mais no utente e tornando-me cada vez mais autónoma no aconselhamento farmacêutico.

2.2.2 Desconhecimento dos nomes das marcas comerciais dos MSRM

No que diz respeito à aprendizagem e adesão de conhecimentos ao nível dos medicamentos no MICEF, adquirimos conhecimentos técnico-científicos sobre de que forma e quais os fatores que levam ao surgimento de uma patologia, de que forma é que a mesma se desenvolve no organismo e quais os mecanismos inerentes e, por fim, quais os princípios ativos indicados e os mecanismos pelos quais atuam no organismo.

Dada a elevada quantidade de moléculas existentes, e, por consequência, a enorme variedade de nomes de marcas comerciais dos medicamentos, muitas das vezes não era fácil associar a molécula ou princípio ativo ao nome da marca comercial do medicamento. Em situações de aviamento de prescrições médicas, alguns utentes usam MSRM de marca comercial. Esses mesmos utentes muitas vezes pediam ajuda para saber se tinham o medicamento que queriam levar na receita, usando a denominação da marca comercial. No início do estágio o meu conhecimento sobre os nomes das marcas comerciais de MSRM era bastante redutor, fazendo com que muitas vezes ficasse com dúvidas em responder aos utentes. Com o avançar do estágio e com a arrumação dos MSRM nas gavetas deslizantes, o meu conhecimento nesta área progrediu bastante, ficando cada vez mais confiante neste tipo de situações.

2.2.3 Testagem COVID-19

A realização de testes rápidos de antigénio para detetar a infeção pelo vírus SARS-CoV-2 foi um dos grandes obstáculos durante o estágio. Tendo em conta o tamanho da equipa técnica da farmácia, antes de começar o meu estágio, a realização destes testes não era possível. Contudo, após a minha entrada, a hipótese de início de testagem foi considerada e, por fim,

realizada. Por ser um serviço novo prestado à comunidade por parte da farmácia e tendo em conta a época crescente de novos casos que surgiam todos os dias no país, a procura por este serviço foi avassaladora.

A testagem em si não era o problema. O problema estava na agitação das pessoas e no ambiente que isso criava dentro da farmácia. O resultado do teste podia ser dado presencialmente, ao fim de 15 minutos, através do *e-mail* ou ainda por mensagem, através do contacto telefónico. Apesar das três opções disponíveis, a maioria dos utentes preferia esperar pelo resultado presencialmente. Isso fez com que a agitação à porta da farmácia fosse gigante. Tendo em conta que era a única pessoa da equipa a dar entrada das pessoas para a testagem, bem como a dar os respetivos resultados, a demora nesta última tarefa fazia com que as pessoas ficassem impacientes e criassem um mau ambiente. Outro aspeto que se destacou pela negativa, foi o facto de muitas pessoas pensarem que a farmácia tinha uma fila bastante grande para o atendimento ao balcão. Ao não haver uma distinção nítida e clara das pessoas que estavam à espera de ser testadas, das pessoas que estavam para o atendimento ao balcão criou muitas vezes perdas de vendas para a farmácia.

2.3 Oportunidades

2.3.1 Formações

O farmacêutico, de forma a prestar o melhor aconselhamento possível aos seus utentes, necessita de estar em constante formação e aprendizagem, assegurando, desta forma, um serviço personalizado e de qualidade a cada um dos utentes.

Ao longo do meu estágio tive a oportunidade de assistir a formações presenciais e *online*, nomeadamente da Tilman[®], Uriage[®], René Furterer[®], Avène[®], Arkopharma[®] e Klorane[®].

Estas formações foram muito importantes e uma mais-valia no aconselhamento farmacêutico, visto que adquirir conhecimentos de uma maior variedade de produtos e, desta forma, pude realizar um melhor aconselhamento personalizado.

2.3.2 Aumento do número de serviços disponibilizados

Quando iniciei o estágio na Farmácia Frota Carvalho, a farmácia dispunha de um serviço de podologia, realizado que 15 em 15 dias, com respetiva marcação. Este serviço para além de servir as necessidades da população, fazia com que novas pessoas viessem à farmácia à procura deste tipo de serviço. Esta procura fazia com que novas relações de confiança fossem estabelecidas e novos utentes fossem conquistados, aumentando as vendas.

Como referido anteriormente, o início da testagem à COVID-19 fez com que muitas pessoas se deslocassem à farmácia para a marcação deste serviço, que na altura era de extrema procura, com o número de novos casos a aumentar exponencialmente todos os dias.

Mais tarde, um serviço de nutrição foi implementado na farmácia, com consultas a serem realizadas de 15 em 15 dias. Este serviço permitiu a entrada de novos produtos na farmácia, aconselhados pela nutricionista contratada.

Todos estes serviços têm por objetivo servir as necessidades de toda a população, com vista ao seu bem-estar.

2.4 Ameaças

2.4.1 Medicamentos Esgotados

Ao longo do estágio, deparei-me com algumas situações em que os medicamentos se encontravam esgotados, sendo um motivo de descontentamento por parte dos utentes, o que condicionou algumas vendas. Quando surgiam utentes com uma prescrição em que o medicamento em causa se encontrava esgotado no mercado, tentava explicar da melhor forma possível quais as alternativas existentes, reforçando a ideia de que desempenharia a mesma função. Apesar da explicação, muitos utentes acabavam por não levar a alternativa, uma vez que desconfiavam que a alternativa que lhes era apresentada não fizesse o mesmo efeito, dizendo muitas vezes que iriam consultar primeiro o seu médico.

2.4.2 Receitas Manuais

A prescrição de receitas manuais acontece quando ocorre uma falência do sistema informático, o volume de prescrição é inferior ou igual a 40 receitas por mês, quando a prescrição é realizada no domicílio ou existe uma inadaptação do prescriptor devidamente justificada (Portaria 224/2015, de 27 de julho – DRE).

No atendimento ao balcão, devemos estar sempre atentos quando somos confrontados com este tipo de receitas, pois existe uma série de pontos que se tem de verificar para que esta se encontre válida, nomeadamente, o preenchimento do nome do utente, o número de beneficiário, a validade da receita, a assinatura do prescriptor, as vinhetas e a exceção legal assinalada. Caso não seja verificada a presença de algum destes pontos mencionados, a receita tem de ser rejeitada, o que conduz a um descontentamento do utente.

Nestas receitas a minha maior dificuldade foi em perceber a caligrafia do médico prescriptor relativamente ao nome da marca comercial de alguns medicamentos e substâncias

ativas, bem como a posologia, tendo muitas vezes que questionar a equipa técnica da farmácia para ter a certeza que cedia os medicamentos corretos. Tudo isto exige uma enorme responsabilidade por parte do farmacêutico, de forma a que seja dispensado o medicamento certo, na dose certa e explicada a posologia correta ao utente.

2.4.3 Credibilidade dos estagiários

A farmácia onde realizei o meu estágio insere-se numa zona rural, onde todos os habitantes se conhecem. A equipa técnica da Farmácia Frota Carvalho encontra-se ao serviço desde o ano 2000, sem qualquer alteração até aos dias de hoje. Estes mais de 20 anos permitiram estabelecer um vínculo bastante forte de confidencialidade e confiança entre os utentes e cada um dos membros da equipa técnica.

Sendo eu uma estagiária e uma cara nova dentro da farmácia, muitos utentes demonstravam uma desconfiança clara nas minhas capacidades. Em muitas situações, principalmente no início, os utentes apesar de se dirigirem ao balcão de atendimento onde eu me encontrava, traziam um discurso de *“Não sei se me vais conseguir ajudar, mas o Dr. Pedro, a Sra. Ângela ou a Sra. Sandra sabem de certeza, é melhor ir perguntar-lhes.”*, mesmo antes sequer de exporem o motivo pelo qual se dirigiam à farmácia.

Senti muito ao longo do estágio toda esta falta de credibilidade que os utentes dão aos estagiários, considerando uma ameaça, uma vez que a confiança depositada nesta profissão por parte dos utentes, especialmente nesta área, é um dos pilares fundamentais para o seu desempenho.

3. Casos Clínicos

Em seguida, apresento alguns casos clínicos com que me deparei na farmácia, e com os quais aprendi e tive a oportunidade de colocar em prática os conhecimentos técnico-científicos adquiridos durante os cinco anos de MICF.

3.1 Caso Clínico A – Pediculose

Uma senhora dirige-se à farmácia e pede algum produto para a filha de 10 anos que tem piolhos. Em seguida, faço-lhe algumas perguntas, nomeadamente há quanto tempo a filha tem piolhos, se é o único elemento na família com piolhos e se já utilizou algum produto para

tratar este problema. A senhora refere que a filha se queixou de “*comichão na cabeça desde ontem*”, que até ao momento “*mais ninguém na família se queixou de comichão*” e que ainda não utilizou nenhum produto.

Ao fim de recolher a informação necessária de forma a perceber qual o melhor aconselhamento a prestar ao utente, procedi à cedência de um antiparasitário, questionando a senhora se preferia champô, loção ou *spray*, ao que me respondeu loção, e, neste caso, cedi-lhe a loção anti-piolhos Puresentiel[®], que continha no seu interior um pente. Em seguida, procedi à explicação de como utilizar corretamente a loção e o pente, devendo aplicar a loção risca a risca em cabelo seco. De seguida, deixar atuar o produto durante 10 minutos, colocando uma toca na cabeça da filha, de forma a que o produto atuasse com a máxima eficácia. Por fim, lavar o cabelo com o champô habitual e utilizar o pente no cabelo húmido para remover as lêndeas e os piolhos.

Para além disso, também sugeri trocar e lavar todo o vestuário e roupa de cama, pois poderiam estar contaminados, higienizar e aspirar a casa, não partilhar almofadas, chapéus, gorros, e outros objetos de uso pessoal.

3.2. Caso Clínico B – Congestão nasal

Uma jovem de 20 anos dirige-se à farmácia referindo que tem o nariz congestionado. Refere também que isso lhe provoca dores de cabeça. Depois de ouvir a utente, questiono-lhe há quanto tempo apresenta os sintomas e se já tomou algum medicamento para tratar o problema. Ao que ela responde “*Ainda não tomei nada, fico assim algumas vezes, mas nunca cheguei a tomar nada. As dores de cabeça são tão fortes, que por vezes mal consigo abrir os olhos*”. Posto isto, cedo-lhe para a congestão nasal uma água do mar para, em primeiro lugar, fazer uma limpeza e, de seguida, um *spray* nasal, o Vibrocil Anti-Alergias[®], com uma concentração de 0,5 mg/mL de propionato de fluticasona, um glucocorticoide que irá descongestionar toda a parte nasal, a ser aplicado duas vezes por dia, após a limpeza com a água do mar. Para as dores de cabeça, uma consequência da congestão nasal, recomendei a toma de Sinutab II[®] (500 mg paracetamol + 30 mg pseudoefedrina), 2 comprimidos de 8 em 8 horas. O Sinutab II[®] é um medicamento não sujeito a receita médica de dispensa exclusiva em farmácia, indicado no tratamento a curto prazo da congestão nasal e dos seios perinasais.

3.3. Caso Clínico C - Zurim® 100 mg vs. Alopurinol ratiopharm 100 mg

Uma senhora de 60 anos dirige-se à farmácia com duas embalagens de medicamentos do marido a pedir para lhe esclarecerem uma dúvida. Uma das embalagens é de Zurim® 100 mg, cujo princípio ativo é o Alopurinol, e a outra embalagem é de um medicamento genérico correspondente, Alopurinol ratiopharm 100 mg. *“Estes medicamentos são do meu marido, mas ele não sabe como tomar, nem para que servem. Um deles foi prescrito pelo médico de família, o outro foi numa consulta no hospital de Coimbra”*. Expliquei-lhe que os dois medicamentos eram constituídos pela mesma substância ativa e que eram ambos usados na profilaxia da gota, uma doença inflamatória causada pelo excesso de ácido úrico no sangue. Como o marido era utente frequente da farmácia, fui ao histórico de vendas e vi que na última prescrição aviada, o médico indicou um comprimido à noite. Deste modo, expliquei-lhe que os medicamentos eram bioequivalentes, que atuavam no organismo da mesma forma. Assim, disse-lhe para o marido terminar uma das embalagens, conforme a posologia indicada na prescrição, e depois, quando a primeira embalagem terminasse, iniciar a próxima.

3.4. Caso Clínico D - Dor de dentes

Um senhor de 50 anos dirige-se à farmácia e diz que apresenta uma *“dor de dentes muito forte, preciso de alguma coisa que me alivie esta dor”*. Perguntei há quanto tempo é que tinha a dor de dentes e se já tinha tomado alguma medicação, ao que o senhor responde *“A dor começou ontem à noite, ainda tomei um Ben-U-Ron® 500 mg que aliviou por um bocadinho, mas tornou-se mais forte esta manhã”*. Assim, aconselhei afincadamente que era imprescindível marcar uma consulta com o médico dentista, uma vez que podíamos estar perante um caso de inflamação. Contudo, até à data da consulta, aconselhei a toma de ibuprofeno 400 mg, 1 comprimido de 8 em 8 horas. Para além dos comprimidos, também sugeri um spray anestésico, Dentispray® (50 mg/mL de benzocaína, um anestésico local), indicado no alívio sintomático da dor de dentes e gengivas.

3.5. Caso Clínico E – Picada de Inseto

Uma senhora dirige-se à farmácia com o seu filho de 12 anos. Expõe os braços e pernas do filho e diz: *“O meu filho foi completamente atacado pelos mosquitos esta noite, o que é que lhe posso dar?”*. Posto isto, questionei a idade da criança e se a senhora já tinha dado alguma coisa ao seu filho. O menino acabou também por confessar que sentia *“muita comichão”* e que não conseguia parar de coçar. Assim, recomendei a toma de um anti-histamínico, cetirizina 10 mg,

uma vez por dia, à noite, durante 5 dias, devido à dimensão e quantidade de picadas. Devido ao prurido sentido na pele, recomendei o uso de Fenistil® gel (1 mg/g de maleato de dimetindeno), duas a três vezes ao dia. Este gel contém um anti-histamínico, utilizado no alívio do prurido associado a picadas de inseto.

Conclusão

O estágio em farmácia comunitária marca um momento de adaptação e início de experiência profissional, onde tive oportunidade de aplicar os conhecimentos técnico-científicos que adquiri nestes últimos cinco anos de MICF. Para além de me acrescentar competências a nível profissional, este estágio em farmácia comunitária também me acrescentou e fez-me crescer a nível pessoal. O atendimento ao público faz com que se conheçam diferentes realidades e diferentes personalidades. Perceber e tentar ajudar nas mais diversas situações, realizando o melhor aconselhamento farmacêutico possível, tornou-me uma pessoa mais autónoma e responsável no desempenho das minhas funções.

Por outro lado, este estágio permitiu-me ter uma noção mais clara da realidade e da importância do farmacêutico comunitário, especialmente em meios pequenos. Muitos utentes veem o farmacêutico como a primeira pessoa que os irá ajudar nos seus problemas, não só ao nível do medicamento e de todas as suas condicionantes, mas também ao nível dos afetos, uma vez que se estabelecem relações de confiança com os utentes que levam a desabafos dos seus problemas pessoais. O facto de estar em contacto diário com a população implicou que estivesse constantemente a atualizar conhecimentos com o objetivo de prestar o melhor aconselhamento farmacêutico.

No decorrer do meu estágio também tive a oportunidade de adquirir mais conhecimentos na área da dermocosmética, dada a quantidade de produtos existentes na Farmácia Frota Carvalho e às formações que tive, tornando-me uma futura profissional de saúde mais capacitada para aconselhar nestas áreas.

Com a colaboração e ajuda por parte de todos os colaboradores da Farmácia Frota Carvalho termino o meu estágio com a sensação de que realizei um bom trabalho e com as ferramentas necessárias para prestar um bom aconselhamento farmacêutico. Ao longo destes quatro meses, sem dúvida, que me tornei uma pessoa mais autónoma no atendimento ao público e mais confiante das minhas capacidades. Sinto que estes foram os primeiros passos para o futuro desafiante da profissão: ser farmacêutica.

Bibliografia

Decreto-Lei n.º 118/2015, de 23 de junho – DRE – [Acedido dia 8 de junho de 2022].

Disponível na *Internet*: <https://dre.pt/dre/detalhe/decreto-lei/118-2015-67541745>

Elo Farma - Rede de Farmácias em Portugal – [Acedido dia 8 de junho de 2022].

Disponível na *Internet*: <https://www.elifarma.com/>

Portaria 224/2015, de 27 de julho – DRE – [Acedido dia 8 de junho de 2022].

Disponível na *Internet*: <https://dre.pt/dre/detalhe/portaria/224-2015-69879391>

PARTE II

Relatório de Estágio em Distribuição Farmacêutica



PLURAL – Cooperativa Farmacêutica, CRL

Lista de Abreviaturas

BPD – Boas Práticas de Distribuição

GAP – Gabinete de Apoio Personalizado

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

SWOT – (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*) – Pontos Fortes, Pontos Fracos, Oportunidades, Ameaças

Introdução

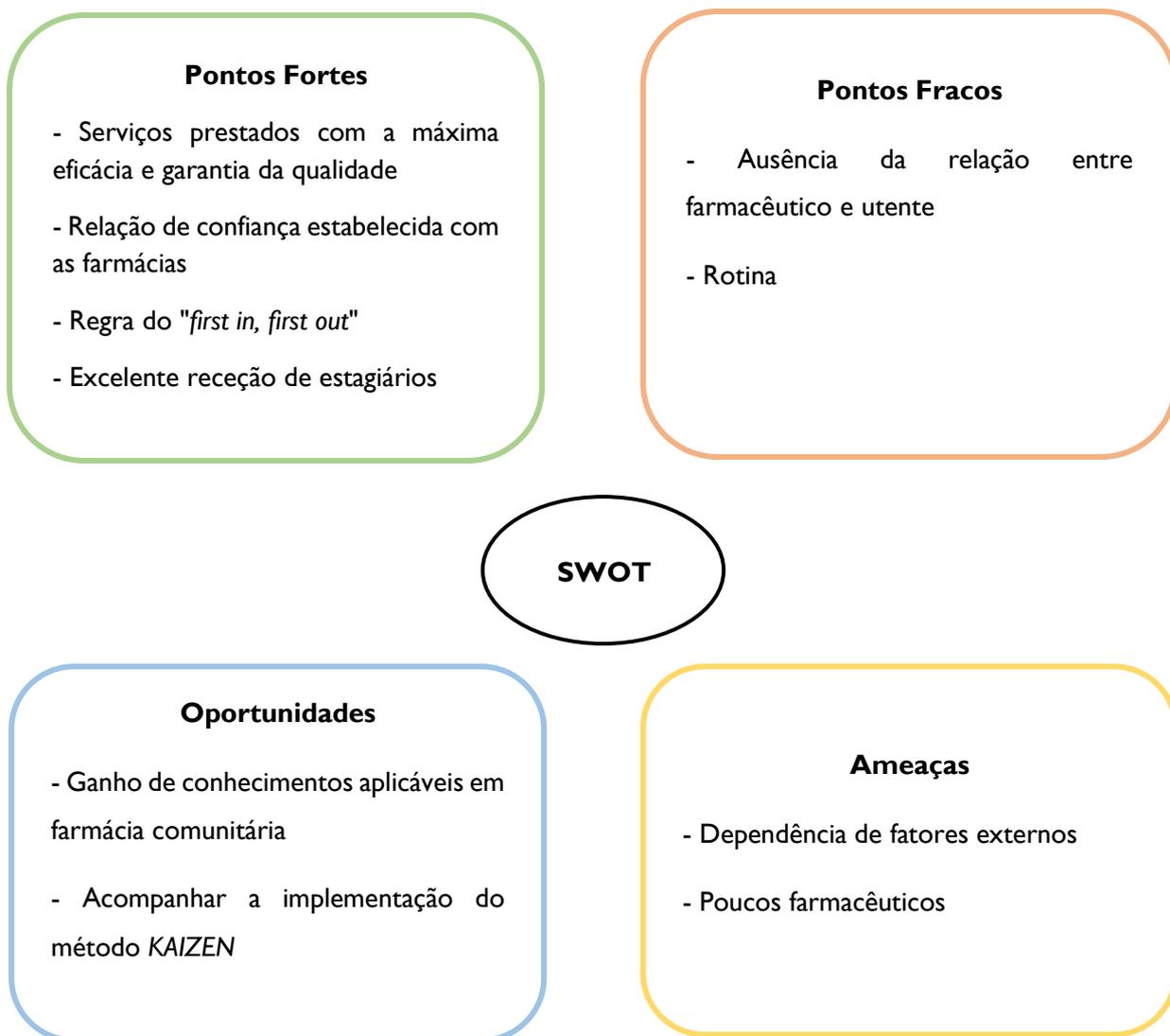
No contexto da unidade “Estágio Curricular”, que decorre durante o 2º Semestre do 5º Ano do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), apresento um relatório de estágio relativo ao meu percurso pela PLURAL – Cooperativa Farmacêutica, CRL. Este estágio insere-se no ramo da Distribuição Farmacêutica, tendo tido uma duração de 420 horas, sob a orientação da Dra. Olga Simões, que desempenha o cargo de Diretora Técnica da plural+udifar. O objetivo deste relatório é apresentar a minha visão e experiência na forma de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*).

Sendo que é durante o Estágio Curricular que temos os primeiros contactos com o mundo farmacêutico, nos seus diversos setores, é no mesmo que iremos construir as nossas bases e primeiras ferramentas para a futura e nobre profissão que é ser farmacêutico. Para além do estágio em farmácia comunitária, foi nos dada a oportunidade de realizar um segundo estágio noutro ramo farmacêutico. Como tal, escolhi o da distribuição farmacêutica, por ser talvez um dos ramos menos discutidos durante todo o MICF, comparada a outros, como a Indústria Farmacêutica ou a Farmácia Hospitalar. Desta forma, este estágio permite expandir horizontes e também novos conhecimentos numa área inexplorada.

A plural+udifar é uma cooperativa que tem como principal missão o aprovisionamento, armazenamento e distribuição de medicamentos aos seus respetivos cooperadores/clientes, assegurando as melhores e mais adequadas condições, no mais curto espaço de tempo e de acordo com as Boas Práticas de Distribuição (BPD). Tendo sido formada em 1974, na altura como Farbeira, CRL, sofreu um processo de fusão, em 2006, com outras duas cooperativas: Cofarbel, CRL e Farcentro, CRL. Com mais de 40 anos de existência, a plural+udifar é composta por 5 armazéns em diferentes zonas do país: Faro, Covilhã, Lisboa, Porto e Coimbra. É na última localidade referida que se encontra a sede desta empresa de distribuição farmacêutica. Os vários anos de existência e o vínculo estabelecido no mercado levou a um crescimento sustentado da empresa ao longo dos anos, permitindo desta forma fazer investimentos cruciais para se tornar numa referência no mercado.

I. Análise SWOT

O presente relatório tem por objetivo a elaboração de uma análise SWOT fundamentada – *Strengths* (Pontos Fortes), *Weaknesses* (Pontos Fracos), *Opportunities* (Oportunidades), *Threats* (Ameaças) – relativa à frequência do estágio. Esta análise permite avaliar e discriminar não só os fatores que estão inseridos a nível interno (Pontos Fortes e Pontos Fracos) que constituíram uma vantagem ou desvantagem durante o estágio, como também aqueles que estão inseridos a nível externo (Oportunidades e Ameaças), que apesar da pluralidade não ter controlo sobre as mesmas, estas não devem ser desvalorizadas.



Quadro 2 - Resumo dos pontos mencionados na análise SWOT.

1.1 Pontos Fortes

1.1.1 Serviços prestados com a máxima eficácia e garantia de qualidade

Como referido anteriormente a plural+udifar é uma cooperativa que tem como principal missão o aprovisionamento, armazenamento e distribuição de medicamentos aos seus respetivos cooperadores de acordo com as BPD. A plural+udifar é uma cooperativa certificada no âmbito da norma ISO 9001, uma norma internacional para Sistemas de Gestão e Qualidade. Assim sendo, existe um manual de qualidade onde constam todas as informações anteriores referidas, permitindo que haja uma descrição clara das características, organização e responsabilidades de cada um dos membros da empresa, facilitando não só a gestão dos recursos humanos e materiais, como também dos processos de trabalho.

O farmacêutico assume a Direção Técnica das operações; pode delegar tarefas, mas não delega responsabilidades e tem a obrigação legal de:

- Manter e assegurar o cumprimento das BPD;
- Monitorizar a saída e entrada de medicamentos estupefacientes e psicotrópicos, bem como de substâncias químicas;
- Liderar a equipa, sendo responsável por gerir recursos humanos de modo a garantir a qualidade dos serviços e atendimentos prestados;
- Seguir a evolução dos objetivos estabelecidos, de modo a garantir o seu sucesso;
- Validar a entrada e recolha de materiais;
- Organizar e acompanhar auditorias e inspeções, bem como resolver qualquer problema referente a inconformidades detetadas;
- Relacionar-se com o INFARMED, DGAV, ASAE, entre outras entidades;
- Esclarecer os restantes diretores sobre dúvidas regulamentares que possam surgir, bem como esclarecer dúvidas de condições comerciais e reclamações de empresas.

Assim, o papel de um farmacêutico diretor técnico de uma empresa como a plural+udifar, difere muito do papel de um farmacêutico comunitário. Isto foi algo que considero elucidante e muito importante, pois reflete a variedade de tarefas que um farmacêutico pode desempenhar e que para tal está habilitado devido à versatilidade da formação adquirida no MICF.

Existe um trabalho de melhoria constante, por parte de todos os membros da empresa, que permite à plural+udifar manter-se como uma das grandes potências de distribuição de medicamentos a nível nacional e chegar cada vez mais a novos clientes.

1.1.2 Relação de confiança estabelecida com as farmácias

É de extrema importância, para qualquer empresa, estabelecer e manter uma relação próxima e de confiança com os seus clientes. Este princípio foi um dos mais destacados durante todo o estágio. É essencial que os clientes estejam satisfeitos e, para tal, a empresa dispõe de diferentes metodologias com esse objetivo em comum. Um serviço fundamental para que se estabeleça interação com as farmácias é o Gabinete de Apoio Personalizado (GAP). Este serviço permite que as farmácias consigam entrar em contacto com a Cooperativa, de forma a esclarecerem dúvidas sobre algum produto e também para o caso de requisição de encomendas ou de algum produto em específico. O departamento de reclamações e devoluções, designado de apoio ao cliente, permite às farmácias uma comunicação acessível de produtos que chegam danificados ou que simplesmente já não são do interesse da farmácia, quer seja por desistência do utente, quer seja pela validade do produto.

1.1.3 Regra do "first in, first out"

Após ser feita a receção de um produto, este entra no *stock* do armazém, sendo encaminhado para a sua localização, onde são cumpridas as condições estabelecidas pelo fabricante quanto à luz, humidade e temperatura. O armazenamento é feito segundo a regra do "first in, first out", ou seja, os produtos rececionados são colocados atrás dos que já se encontram na localização respetiva. Contudo, se os novos produtos que chegarem tiverem um prazo de validade inferior aos dos já existentes, serão colocados à frente, de forma a serem escoados primeiro. Esta metodologia é particularmente importante na área da distribuição do medicamento por diferentes motivos:

- O *stock* da empresa é enorme, tanto em número de referências de produtos, como em número de unidades por cada uma das referências. Se não houver um procedimento de arrumação, facilmente aconteceria que um produto com um prazo de validade mais curto pudesse ficar no meio de outros com um prazo de validade maior;
- Diminui o número de reclamações e devoluções de produtos que se encontrem perto ou fora do prazo de validade;
- Permite um melhor controlo do *stock*.

1.1.4 Excelente recepção de estagiários

Foi notório, desde o primeiro dia de estágio, o ambiente de boas vindas e de integração na empresa por parte de todos os elementos. Tendo em conta que cumprir horários é um dos grandes pilares para que toda a logística da empresa funcione, percebe-se que há uma certa agitação e preocupação em desempenhar as tarefas. No entanto, tal situação não impediu de forma alguma a abordagem e apresentação dos diferentes setores. No primeiro dia, a Dra. Olga Simões, orientadora do estágio, apresentou o plano do estágio, descrevendo as diferentes tarefas que ia desempenhar, os setores da empresa que ia conhecer, o funcionamento e organigrama da empresa e o todo o percurso do medicamento.

Em cada um dos setores pelos quais passei, dentro e fora do armazém, sente-se que as pessoas que trabalham na empresa estão dispostas a esclarecer qualquer dúvida. São pessoas que estimulam a integração dos estagiários na empresa e no desempenhar das tarefas. Trabalham árdua e diariamente para melhorar a prestação dos serviços por parte da plural+udifar aos seus clientes, fazendo com que a empresa cresça.

1.2 Pontos Fracos

1.2.1 Ausência da relação entre farmacêutico e utente

Durante os cinco anos do MICF ocorre o leccionamento das unidades curriculares no contexto da saúde pública. O farmacêutico, sendo um profissional de saúde, desempenha um papel fundamental no auxílio dos utentes. No entanto, na área da distribuição farmacêutica este papel de acompanhamento do utente não ocorre. Tal não retira qualquer mérito no desempenho das suas funções. Contudo, esta área fez com que, de certa forma, um medicamento passe a ser apenas mais uma caixa e, dessa forma, o papel ativo do farmacêutico na sociedade desvanece-se.

1.2.2 Rotina

Dada a complexidade da estrutura e organização da empresa, o número de tarefas que um estagiário pode desempenhar é limitado. A cada funcionário é atribuído um papel e responsabilidades bem definidas, sendo que, sendo uma estagiária sem qualquer experiência na área a minha intervenção torna-se limitada. O contributo dos estagiários passa pelo abastecimento dos canais de máquinas automáticas de enchimento de baques, aviamento de medicamentos através de sistemas semiautomáticos, triagem dos produtos recebidos pelo departamento das reclamações, entre outras tarefas. Embora as tarefas acabem por se tornar

monótonas e rotineiras ao longo do estágio, são bastante importantes para compreender a dinâmica e funcionamento da empresa.

1.3 Oportunidades

1.3.1 Aquisição de conhecimentos aplicáveis em Farmácia Comunitária

Os meus conhecimentos no início do estágio acerca da área da distribuição farmacêutica eram bastantes reduzidos. No entanto, ao ter a oportunidade de observar e efetuar diferentes tarefas nas distintas áreas da plural+udifar fez com que passasse a ter uma noção mais completa sobre o percurso do medicamento e todas as etapas pelas quais todos os produtos têm de passar, bem como as tarefas a serem realizadas para garantir um serviço de excelência antes do medicamento chegar às farmácias.

O facto de ser um armazém que fornece um número elevado de clientes, faz com que tenha uma variedade enorme de produtos, sendo que muitos deles nem sequer sabia da sua existência. Uma vez que as tarefas realizadas durante o estágio permitiram o contacto direto com os medicamentos e outros produtos, torna-se uma mais valia no que diz respeito, por exemplo, a nomes de marcas comerciais de certos medicamentos. Este tipo de conhecimento torna-se fundamental na área da farmácia comunitária, uma vez que muitas das vezes os utentes não sabem a denominação dos produtos que consomem ou até mesmo em termos de aconselhamento de certos produtos.

1.3.2 Acompanhar a implementação do método *KAIZEN*

A plural+udifar, sendo uma empresa de distribuição farmacêutica, pretende que os seus números cresçam, quer em vendas, quer em clientes. Desta forma, aproximadamente dois meses antes de iniciar o estágio, tinham sido feitos investimentos nesse sentido. Isto é, tinham investido num departamento de gestão e melhoria contínua, com a aplicação de vários conceitos, sendo um deles o método *KAIZEN*. O que o método *KAIZEN* defende é “mudar para melhor”, fazendo com que haja uma redução dos custos e um aumento da produtividade. Para que tal ocorra, as pessoas têm de melhorar, de forma contínua, o desempenho das suas funções, e, dessa forma, contribuir para melhorar o desempenho da empresa, não esquecendo das suas necessidades individuais.

1.4 Ameaças

1.4.1 Dependência de fatores externos

O bem-estar financeiro da plural+udifar está intimamente interligado com o bem-estar financeiro dos seus clientes. O poder de compra das farmácias, bem como os preços praticados pelos laboratórios e fornecedores são fatores cruciais no que diz respeito à estabilidade financeira e possíveis investimentos futuros. Toda esta dinâmica cria uma situação constante de preocupação e atenção relativamente a possíveis mudanças que possam ocorrer.

1.4.2 Poucos farmacêuticos

Na Plural, uma empresa de distribuição farmacêutica, os farmacêuticos desempenham cargos de direção técnica, de direção da empresa, de departamento de compras e ainda de gestores comerciais. Contudo, tendo em conta a dimensão da empresa e do número de funcionários que abrange, os farmacêuticos ocupam uma pequena parcela. Este facto torna-se, de certa forma, uma desvantagem para a profissão.

Conclusão

A formação adquirida no MICF permite ter conhecimento do enquadramento legal exigido na área da distribuição farmacêutica, mas a sua verdadeira extensão e aplicação são muito mais complexos na realidade. O diretor técnico, na área da distribuição grossista do medicamento, é o responsável por inúmeras tarefas que permitem garantir a qualidade e conformidade do medicamento, embora não entre em contacto direto com o mesmo.

O medicamento está sujeito a normas de qualidade, segurança e eficácia. É extremamente importante que todos os intervenientes do circuito do medicamento tenham conhecimento dessas mesmas normas. O cumprimento dos vários princípios e procedimentos para manter a qualidade e integridade do medicamento ao longo da cadeia de abastecimento é um dos fatores chaves para o sucesso da empresa.

Estes dois meses de estágio na Plural proporcionaram-me a oportunidade de adquirir novos conhecimentos sobre uma área muito pouco explorada ao longo dos cinco anos do MICF. É importante destacar que não houve apenas uma evolução a nível profissional e curricular, a nível pessoal foi também uma experiência bastante enriquecedora. Toda a ajuda, disponibilidade e conhecimentos transmitidos pelos colaboradores foi fundamental para a realização das diferentes tarefas propostas.

Bibliografia

plural+udifar – [Acedido dia 1 de julho de 2022]. Disponível na *Internet*:
<https://www.plural.pt/>

PARTE III

Monografia

**"Alterações epigenéticas desencadeadas pelo *stress* e
depressão materna durante a gravidez"**

Resumo

A gravidez é um período de grande vulnerabilidade, em que o *stress* e a ansiedade podem resultar em quadros depressivos. A depressão afeta 6 a 17% das mulheres grávidas em todo o mundo e pode resultar em complicações como parto prematuro e, mais tarde, problemas de saúde mental na descendência.

O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, que culmina com a produção de cortisol, o principal glucocorticoide no organismo humano, envolve um conjunto sequencial de processos, que regulam a resposta ao *stress*. A desregulação desta sequência, associada, por exemplo a estímulos de *stress*, ansiedade ou depressão, pode resultar na produção excessiva de cortisol. Em mulheres grávidas, quando ocorre esta desregulação, e níveis elevados de cortisol atingem o feto durante o neurodesenvolvimento, podem ocorrer alterações na programação genética. Alterações de mecanismos epigenéticos, como a metilação do ácido desoxirribonucleico (DNA) e a alteração enzimática de proteínas histonas, podem alterar a estrutura da cromatina e, conseqüentemente, a expressão genética do feto.

Neste trabalho pretendo investigar qual a relação entre o *stress* e depressão materna durante a gravidez e alterações epigenéticas que possam ocorrer no DNA fetal, bem como conseqüências que possam ocorrer na saúde do bebê.

Palavras-chave: depressão materna pré-natal; *stress*; metilação do DNA; cortisol; recetor de glucocorticoides; epigenética.

Abstract

Pregnancy is a period of great vulnerability, in which stress and anxiety can result in depressive conditions. Depression affects 6-17% of pregnant women worldwide and can result in complications such as premature birth and, later, mental health problems in the offspring.

The hypothalamic-pituitary-adrenal axis, which culminates in the production of cortisol, the main glucocorticoid in the human body, involves a sequential set of processes that regulate the stress response. The deregulation of this sequence, associated, for example, with stimuli of stress, anxiety or depression, can result in the excessive production of cortisol. In pregnant women, when this dysregulation occurs, and high levels of cortisol reach the fetus during neurodevelopment, changes in genetic programming can occur. Alterations in epigenetic mechanisms, such as DNA methylation and enzymatic alteration of histone proteins, can alter chromatin structure and, consequently, fetal gene expression.

In this work I intend to investigate the relationship between maternal stress and depression during pregnancy and epigenetic changes that may occur in fetal DNA, as well as consequences that may occur in the baby's health.

Keywords: prenatal maternal depression; stress; DNA methylation; cortisol; glucocorticoid receptor; epigenetics.

Lista de Abreviaturas

ACTH – *Adrenocorticotropic Hormone* – Hormona Adrenocorticotrófica

BDNF – *Brain-derived neurotrophic factor* – Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro

CGPs – Células Germinativas Primordiais

CRH – *Corticotropin-Releasing Hormone* – Hormona Libertadora de Corticotrofina

DNA – *Deoxyribonucleic Acid* – Ácido Desoxirribonucleico

DNMTs – DNA metiltransferases

DSM-5 – *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition* – Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, 5.^a edição

GLC – Globulina de Ligação ao Cortisol

HPA – Hipotálamo-Pituitária-Adrenal

HSD11B2 – 11- β -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 2

SNC – Sistema Nervoso Central

5-HT – 5-Hidroxitriptamina, Serotonina

Introdução

Uma das principais causas de incapacidade a nível mundial é a depressão. Nos países desenvolvidos, estima-se que a taxa de prevalência de depressão ao longo da vida seja de 10 a 20%, sendo as mulheres duas vezes mais afetadas por esta patologia do que os homens. (Nemoda & Szyf, 2017)

A gravidez é um período de grande sensibilidade na vida de qualquer mulher. O aparecimento de sintomas depressivos durante a gravidez é bastante comum e cerca de 10% das mulheres grávidas apresentam um quadro de depressão (Nemoda & Szyf, 2017). A parentalidade envolve grandes desafios, não só no domínio psicológico, mas também nos domínios biológico, familiar e social. Se a mulher tiver dificuldades em alcançar um equilíbrio entre questões pessoais, familiares e profissionais, a gravidez pode tornar-se um período de *stress*, especialmente em mulheres suscetíveis a ansiedade ou depressão. (Lautarescu *et al.*, 2020) A depressão materna, durante o período pré-natal, é uma condição que afeta a mulher, mas também o bebé. (Davalos *et al.*, 2012)

Neste trabalho será discutida a relação entre a depressão da mulher grávida no período pré-natal e potenciais alterações epigenéticas que possam ocorrer no feto em desenvolvimento, a forma como afetam a expressão genética do feto e quais as consequências para a saúde do bebé.

I. Depressão materna durante a gravidez

A depressão, também conhecida como transtorno depressivo *major* ou depressão clínica, é uma doença psiquiátrica comum e grave. A persistência de alguns sintomas (durante pelo menos duas semanas) afeta a capacidade de agir, pensar e sentir. Além das questões emocionais causados pela depressão, os indivíduos também podem apresentar sintomas físicos, como dor crônica ou problemas digestivos.

O Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, 5.^a edição (DSM-5) apresenta critérios específicos para que haja o diagnóstico de depressão: o indivíduo deve apresentar cinco ou mais sintomas, descritos posteriormente, durante um período de pelo menos duas semanas, sendo que um dos sintomas tem de ser humor deprimido ou perda de interesse ou prazer. Sintomas de diagnóstico:

- Humor deprimido na maior parte do dia, quase todos os dias;
- Interesse ou prazer acentuadamente diminuídos em todas ou quase todas as atividades na maior parte do dia, quase todos os dias;
- Perda de peso significativa quando não se está num regime alimentar cujo objetivo é a perda de peso ou ganho de peso, ou diminuição ou aumento do apetite, quase todos os dias;
- Uma desaceleração do pensamento e uma redução do movimento físico observável por outros;
- Fadiga ou perda de energia, quase todos os dias;
- Sentimentos de inutilidade ou culpa excessiva ou inadequada, quase todos os dias;
- Capacidade diminuída de pensar ou de concentração, ou indecisão, quase todos os dias;
- Pensamentos recorrentes de morte, ideação suicida recorrente sem um plano específico, ou tentativa de suicídio ou plano específico para cometer suicídio.

A perda de interesse e prazer pelas atividades diárias leva a que haja uma notória diminuição da capacidade funcional, quer a nível profissional, quer a nível social. Para além dos sintomas descritos, os indivíduos deprimidos apresentam frequentemente quadros de irritabilidade, melancolia e ruminação obsessiva, e relatam ansiedade, fobias, preocupação excessiva com a saúde física e queixam-se de dor. (Turkheimer & Waldron, 2019)

Os transtornos depressivos estão entre as principais causas de incapacidade em todo o mundo, sendo que a depressão afeta duas vezes mais as mulheres do que os homens. A gravidez, momento crítico para a vida de uma mulher, pode condicionar o seu estado de saúde, não só físico, como também mental e emocional. Muitas decisões têm de ser tomadas, estilos de vida têm de ser adaptados e é um período caracterizado por alterações hormonais. Todas estas emoções e mudanças suscetibilizam ao desenvolvimento de ansiedade, stress crónico ou depressão. (Nemoda & Szyf, 2017) Algumas mulheres experienciam o seu primeiro episódio depressivo durante a gravidez, ao passo que outras, com história pessoal de depressão, apresentam um risco aumentado de recidiva ou até mesmo de exacerbação. (Bennett *et al.*, 2004) Os sintomas depressivos durante a gravidez são bastante comuns. Contudo, o diagnóstico de depressão em mulheres grávidas pode ser complicado devido à sobreposição de queixas de uma gravidez normal (alterações do sono, alteração do apetite e fadiga), com alguns sintomas depressivos referidos acima. (Pearlstein, 2015)

A depressão materna durante a gravidez tem sido associada ao aumento do risco de complicações obstétricas, como a diabetes gestacional e hipertensão. (Nemoda & Szyf, 2017) Por outro lado, o sofrimento psicológico por parte da mulher grávida também pode afetar substancialmente a fisiologia e o comportamento fetal, bem como o desenvolvimento posterior da criança. (Nemoda & Szyf, 2017) Embora estas alterações possam ser explicadas por comportamentos destrutivos frequentemente praticados por grávidas deprimidas, como o consumo de álcool, o tabagismo e uma alimentação menos adequada, vários estudos epidemiológicos, após controlarem estes fatores, ainda encontraram uma associação entre o estado de saúde mental da mãe com alterações observadas na descendência. (Nemoda & Szyf, 2017) Desta forma, tem sido proposto que o ambiente psicossocial materno, entre outros fatores, tem um impacto nos processos biológicos do feto, possivelmente por alterações ao nível da placenta, como a diminuição da expressão da enzima 11- β -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 2 (HSD11B2) e a secreção e libertação de grandes quantidades da hormona libertadora de corticotrofina (CRH). Esta teoria, chamada de programação de desenvolvimento ou programação fetal, envolve alterações epigenéticas do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) do feto e alterações no neurodesenvolvimento de regiões críticas do cérebro. (Nemoda & Szyf, 2017)

2. Eixo hipotálamo-pituitária-adrenal

A ativação do eixo HPA é uma resposta adaptativa para restabelecer a homeostase a curto prazo. (Wood & Walker, 2016) O eixo HPA é responsável pela produção de substâncias, nomeadamente glucocorticoides, determinantes nas respostas ao *stress*. O ser humano não tem um controlo voluntário sobre a atividade do eixo HPA, nem sobre a secreção de glucocorticoides. Experiências consideradas *stressantes* constituem um estímulo para a ativação do eixo HPA e, conseqüentemente, para a secreção de cortisol, o principal glucocorticoide endógeno. (Cole *et al.*, 2019) Desta forma, o cortisol é comumente denominado hormona do *stress*. Para além do seu papel na atividade do eixo HPA, esta hormona esteróide tem propriedades anti-inflamatórias e imunossupressoras. (Cole *et al.*, 2019)

Em resposta a um estímulo de *stress*, os neurónios do hipotálamo libertam CRH, sendo que, através do sistema hipotálamo-hipofisário, a mesma atinge a adeno-hipófise, onde estimula a secreção da hormona adrenocorticotrófica (ACTH). A ACTH, através da corrente sanguínea, atinge o córtex suprarrenal, onde estimula a secreção de glucocorticoides, principalmente de cortisol. O cortisol atua sobre recetores glucocorticoides expressos em vários tecidos do organismo, nomeadamente no cérebro, onde os recetores detetam a quantidade de glucocorticoides ativos que se encontram na corrente sanguínea, desencadeando um mecanismo de *feedback* negativo, inibidor do eixo HPA, controlando a secreção de CRH e ACTH (Figura 1). (Mourtzi *et al.*, 2021)

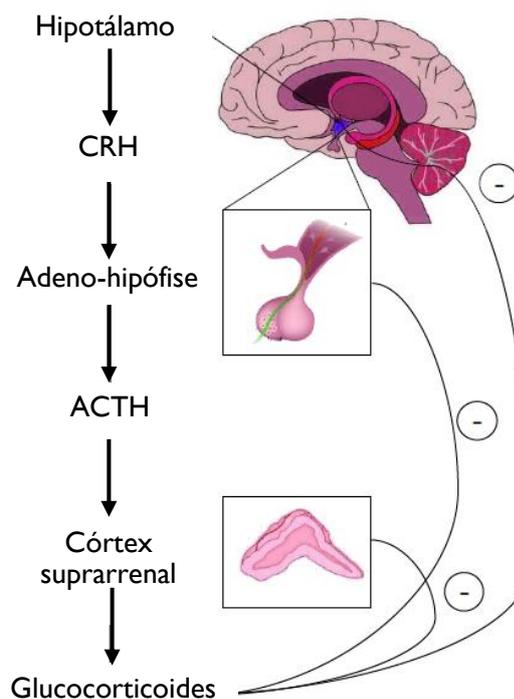


Figura 1 – Resposta do eixo HPA a um estímulo de *stress*. (Imagem adaptada de Mourtzi *et al.*, 2021)

Contudo, os glucocorticoides não estão apenas envolvidos no restabelecimento da homeostase a curto prazo quando somos sujeitos a *stress*. Durante o final da gestação, os glucocorticoides são necessários para garantir a maturação estrutural e funcional dos órgãos no feto. (Solano & Arck, 2020) Desta forma, momentos antes do parto, os glucocorticoides são essenciais para a maturação pulmonar e produção de surfactante. (Shearer *et al.*, 2019) Consequentemente, na iminência de ocorrer um parto prematuro, a mulher grávida pode ser tratada com glucocorticóides sintéticos, como a dexametasona ou betametasona, para induzir a maturação pulmonar. (Shearer *et al.*, 2019)

3. Relação entre a desregulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal e a depressão materna

A teoria monoaminérgica sugere que uma diminuição ou deficiência na atividade monoaminérgica cerebral resulta na depressão. As monoaminas são um grupo de neurotransmissores do Sistema Nervoso Central (SNC), que incluem a dopamina, a noradrenalina e a 5-hidroxitriptamina (5-HT), também designada serotonina. (Mahar *et al.*, 2014)

Os sistemas monoaminérgicos estão intimamente ligados ao eixo HPA. O cortisol leva a que haja um aumento da expressão do gene que codifica o transportador de serotonina, que tem o papel de remover a serotonina da fenda sinática. (Mahar *et al.*, 2014) Além disso, o cortisol também diminui os níveis da enzima triptofano hidroxilase, uma enzima que catalisa a transformação do triptofano em serotonina. Estas duas alterações no SNC levam a que haja uma diminuição da serotonina disponível na fenda sinática. (Mahar *et al.*, 2014)

Podemos assim concluir que uma desregulação do eixo HPA leva a que elevados níveis de cortisol interfiram na neurotransmissão, mais especificamente nos sistemas monoaminérgicos. A diminuição dos níveis de serotonina disponíveis na fenda sinática alteram a atividade monoaminérgica, aumentando a probabilidade de desenvolvimento de um estado depressivo. (Mahar *et al.*, 2014)

4. Barreiras protetoras do feto contra os glucocorticoides

No final do primeiro trimestre de gravidez, o aumento do nível de estrogénio leva a um aumento dos níveis de globulina de ligação ao cortisol (GLC), uma proteína à qual aproximadamente 90% do cortisol está ligado. Ao mesmo tempo, ocorre uma diminuição da

depuração hepática do complexo formado pelo cortisol e pela GLC. Desta forma, os níveis de cortisol aumentam duas a três vezes, atingindo um pico durante o segundo e terceiro trimestres. Além disso, a placenta, um órgão cuja principal função é promover a comunicação entre a mãe e o feto e, dessa forma, garantir as condições ideais para o desenvolvimento do feto, secreta e liberta grandes quantidades de CRH para a corrente sanguínea fetal e materna ao longo da gestação. (Pofi & Tomlinson, 2020) Assim, os níveis de CRH produzidos pela placenta têm a capacidade de atuar diretamente no eixo HPA materno, levando ao aumento dos níveis de cortisol. (Wood & Walker, 2016)

Durante uma gravidez normal, os níveis de glucocorticoides aumentam de uma forma progressiva. Contudo, a depressão materna ou o *stress* crônico a que a grávida possa estar sujeita, são situações que levam a um nível ainda mais elevado da hormona do *stress* (o cortisol) na corrente sanguínea materna. (Nemoda & Szyf, 2017) Hipertensão, dislipidemia e *diabetes mellitus* são algumas patologias potencialmente desenvolvidas no feto devido à exposição de glucocorticoides ativos em quantidades excessivas. (Reynolds, 2013) Para além disso, a exposição fetal a níveis elevados de cortisol materno interrompe a programação de sistemas de resposta ao *stress* biológico fetal. (Conradt *et al.*, 2013)

A placenta desempenha um papel vital na moderação da exposição fetal aos fatores maternos. (Harris & Seckl, 2011) Apesar do cortisol lipofílico ter a capacidade de atravessar facilmente as barreiras sanguíneas e membranas celulares, uma enzima, expressa pela placenta, metaboliza 80 a 90% do cortisol materno na sua forma inativa, a cortisona, protegendo o feto em desenvolvimento dos efeitos negativos dos glucocorticoides ativos. Esta enzima placentária, a HSD11B2, é uma das principais barreiras protetoras do feto. (Nemoda & Szyf, 2017)

Os níveis de HSD11B2 na placenta aumentam ao longo da gestação. Por outro lado, como a expressão de recetores glucocorticoides permanece constante na placenta durante toda a gestação, a variação natural dos níveis de HSD11B2 tem a capacidade de controlar a ação dos glucocorticoides. (Harris & Seckl, 2011) Contudo, o *stress* crônico e a ansiedade pré-natal têm sido interligados com uma menor expressão da enzima placentária responsável pela metabolização do cortisol. (Nemoda & Szyf, 2017) Para além disso, o *stress* e ansiedade experienciados pela mulher grávida aumentam os níveis de cortisol de tal forma, que a enzima HSD11B2 não tem capacidade de metabolizar todo o cortisol produzido, uma vez que os níveis elevados de cortisol sobrecarregam ou alteram o metabolismo desta hormona. (Conradt *et al.*, 2013) De uma menor expressão da enzima, associada a uma grande quantidade de cortisol na corrente sanguínea, resulta a proteção deficitária do feto e posteriores consequências dos níveis elevados de cortisol.

Ao longo da gravidez, há uma normal regulação e funcionamento de todo o eixo HPA materno, protegendo o feto em desenvolvimento dos níveis elevados de cortisol, bem como das suas consequências. (Latendresse *et al.*, 2017) Numa situação de *stress* crónico, o eixo HPA é constantemente ativado e estimulado, fazendo com que níveis elevados de cortisol circulem na corrente sanguínea materna. Níveis elevados de cortisol associados a uma diminuição da expressão da enzima HSD11B2, levam a que o cortisol consiga atravessar a placenta em quantidades elevadas.

5. Alteração de mecanismos epigenéticos pela depressão materna durante a gravidez

5.1 Epigenética

O termo epigenética foi originalmente introduzido por Conrad Waddington no início da década de 1940. O prefixo epi- (em grego – *over, on*) implica que algo está “acima” da genética. Definiu o objetivo da epigenética como sendo “descobrir os processos envolvidos no mecanismo pelo qual os genes do genótipo provocam efeitos fenotípicos”. (Vukic *et al.*, 2019)

Durante o desenvolvimento, as células do organismo adquirem diferentes fenótipos, que são o resultado dos diferentes padrões de expressão genética. A acessibilidade do DNA a fatores de transcrição e outros elementos envolvidos na mesma pode ser alterada, influenciando os padrões de expressão genética. (Vukic *et al.*, 2019)

Os principais mecanismos epigenéticos incluem a modificação enzimática de histonas, proteínas que atuam no processo de compactação da cromatina e que estão envolvidas na regulação da expressão genética, e a metilação do DNA. (Nemoda & Szyf, 2017)

5.2 Reprogramação epigenética

A regulação epigenética pode influenciar os padrões de expressão genética ao longo da vida, mas é particularmente importante durante as primeiras fases do desenvolvimento embrionário, quando ocorrem duas fases de reprogramação epigenética. A reprogramação epigenética, que se refere à eliminação de marcas epigenéticas em todo o genoma, ocorre nas células germinativas primordiais (CGPs) desde o início até meio da gestação no útero, e no embrião no início do desenvolvimento. Durante a reprogramação das CGPs, ocorre a eliminação global da metilação do DNA e das modificações de histonas. A segunda fase de reprogramação epigenética envolve a eliminação das marcas epigenéticas que definiram os

padrões de expressão genética dos gâmetas parentais maduros. Este processo permite que o zigoto retome a um estado de totipotência (capacidade de uma célula em diferenciar-se em qualquer tipo de célula do organismo) e que as células do embrião primitivo se diferenciem em qualquer um dos diferentes tipos de células do nosso corpo. (Vukic *et al.*, 2019)

5.3 Impacto da epigenética ambiental durante a gravidez

Muitos estudos indicam que os eventos que ocorrem ainda numa fase precoce da vida são de importância crítica para a saúde na vida adulta. Além disso, é amplamente reconhecido que um estilo de vida equilibrado pode ajudar a prevenir ou tratar certas doenças. Embora a variação genética seja o principal elemento que contribui para a resposta fenotípica de um indivíduo a fatores ambientais, continua a ser difícil identificar as diferenças de sequências de DNA subjacentes. Dado o seu papel essencial na regulação dos padrões de expressão genética, tornou-se claro que fatores ambientais, como nutrientes, *stress*, comportamento materno, estímulos imunitários ou químicos, podem alterar as marcas epigenéticas (Figura 2). (Vukic *et al.*, 2019)

Os efeitos ambientais sobre o fenótipo podem ser mais marcados se ocorrerem durante certos períodos de vida. Estas fases de maior suscetibilidade parecem sobrepor-se às janelas de tempo críticas da reprogramação epigenética. Por exemplo, insultos ambientais vividos pela mãe durante a gravidez podem influenciar o fenótipo da descendência, quer diretamente, através da exposição no útero da mãe, ou indiretamente, através da transmissão hereditária de um estado genético (epi)alterado (Figura 2). (Vukic *et al.*, 2019)

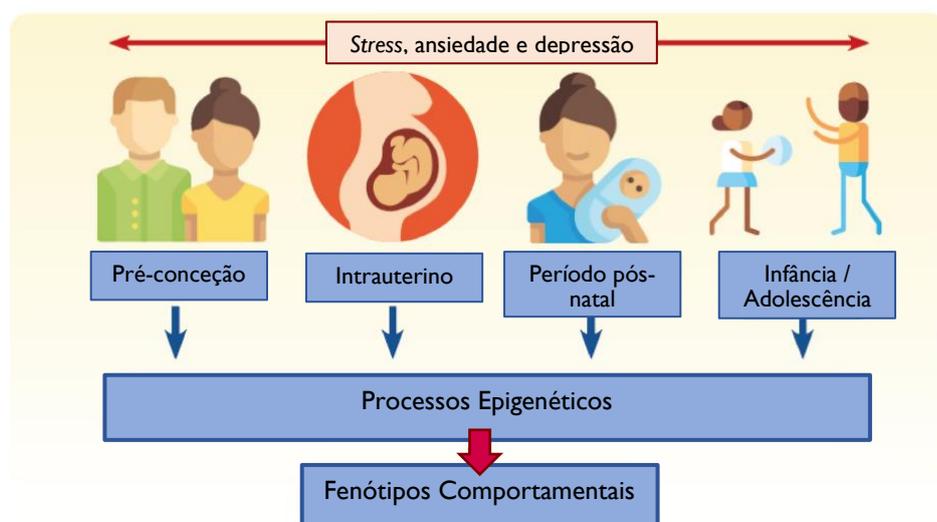


Figura 2 – Perpetuação epigenética do impacto do *stress*, ansiedade e depressão no fenótipo comportamental. (Imagem adaptada de Juruena *et al.*, 2021)

5.4 Influência da metilação do DNA na expressão genética

Os padrões de metilação do DNA são estabelecidos durante o desenvolvimento. A metilação do DNA é um mecanismo epigenético que envolve a transferência de um grupo metil para a posição C5 da citosina para formar 5-metilcitosina, sendo esta reação catalisada por DNA metiltransferases (DNMTs). Quando um padrão de metilação do DNA é estabelecido, o mesmo pode ser fielmente replicado pela manutenção da DNA metiltransferase DNMT1 durante a replicação do DNA. Outras DNMTs, chamadas DNMTs *de novo*, como DNMT3A e DNMT3B, são responsáveis pela metilação *de novo*, ou seja, introduzem novos eventos de metilação no DNA, que não são dependentes do padrão de metilação da cadeia molde. Estas duas DNMTs atuam após a eliminação de marcas epigenéticas em todo o genoma, que ocorre durante o processo de reprogramação epigenética (Figura 3). (Nemoda & Szyf, 2017)

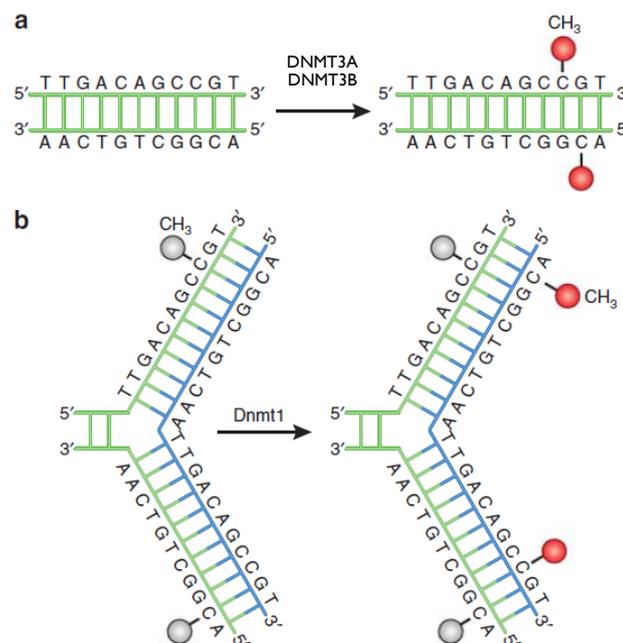


Figura 3 – Vias de metilação do DNA. Uma família de DNMTs catalisa a transferência de um grupo metil para a posição C5 da citosina para formar 5-metilcitosina. (a) DNMT3A e DNMT3B são as DNMTs *de novo* e transferem grupos metil (vermelho) para o DNA nu, ou seja, após serem eliminadas as marcas epigenéticas em todo o genoma. (b) DNMT1 é uma DNMT de manutenção e mantém o padrão de metilação do DNA durante a replicação. Quando o DNA sofre replicação semiconservativa, a cadeia de DNA parental retém o padrão de metilação do DNA original (cinza). DNMT1 replica com precisão o padrão original de metilação do DNA, adicionando grupos metil (vermelho) na nova cadeia de DNA recém-formada (azul). (Imagem adaptada de Moore *et al.*, 2013)

Este mecanismo epigenético tem a capacidade de regular a expressão genética, recrutando proteínas envolvidas na repressão genética ou através da inibição da ligação do(s) fator(es) de transcrição ao DNA. (Moore *et al.*, 2013) Por exemplo, a metilação do DNA em sítios de ligação específicos de fatores de transcrição, pode bloquear a ligação dos mesmos a promotores (regiões do DNA onde se inicia a transcrição de um determinado gene), bem como a potenciadores (regiões curtas de DNA que podem ser ligadas por proteínas (ativadores – fatores de transcrição) para aumentar a probabilidade de ocorrer a transcrição de um determinado gene). Assim, uma mudança na metilação do DNA num local específico pode resultar na redução da transcrição. (Nemoda & Szyf, 2017) Durante o desenvolvimento, o padrão de metilação do DNA no genoma muda, como resultado de todo um processo dinâmico, envolvendo a metilação e a desmetilação. Como consequência, as células diferenciadas desenvolvem um padrão único e estável de metilação do DNA que regula a transcrição de genes específicos de tecidos. (Moore *et al.*, 2013) O padrão de metilação do DNA, que é definido durante o desenvolvimento embrionário, é crítico para a estabilidade dos programas de expressão de genes específicos de tecidos e células ao longo da vida. (Nemoda & Szyf, 2017)

5.5 Modificação enzimática de histonas

Associado à metilação do DNA, ocorre outro mecanismo epigenético: a modificação enzimática de histonas. Em seres eucariotas, o DNA não está livre no núcleo das células, mas sim associado a diversas proteínas – complexo DNA-proteínas, denominado por cromatina. As principais proteínas associadas ao DNA são as histonas, que atuam no processo de compactação da cromatina e que estão envolvidas na regulação da expressão genética. (Cedar & Bergman, 2009) Metilação, acetilação e fosforilação são reações químicas a que as histonas são sujeitas. Estas reações influenciam não só o empacotamento das cadeias de DNA, mas também a respetiva atividade transcricional. Por exemplo, modificações de histonas, que enfraquecem a associação entre as mesmas e o DNA (como a acetilação) geralmente fornecem um ambiente propício para a transcrição de genes e, conseqüentemente, para a tradução de proteínas. Por outro lado, modificações de histonas que fortalecem o empacotamento do DNA às histonas (como a metilação), reprimem a expressão genética, levando a uma baixa transcrição de genes e, deste modo, a um baixo nível de tradução em proteínas. (Moore *et al.*, 2013)

Estes dois mecanismos epigenéticos têm a capacidade de regular a estrutura da cromatina e a expressão genética de proteínas. Contudo, ambos podem vir a sofrer alterações

devido à depressão materna pré-natal, afetando o desenvolvimento do feto (Figura 4). O que ocorre é um aumento do nível de metilação do DNA e, ao mesmo tempo, a perda de acetilação das histonas, o que se traduz numa estrutura de heterocromatina inativa, que leva à diminuição da expressão genética. (Nemoda & Szyf, 2017)

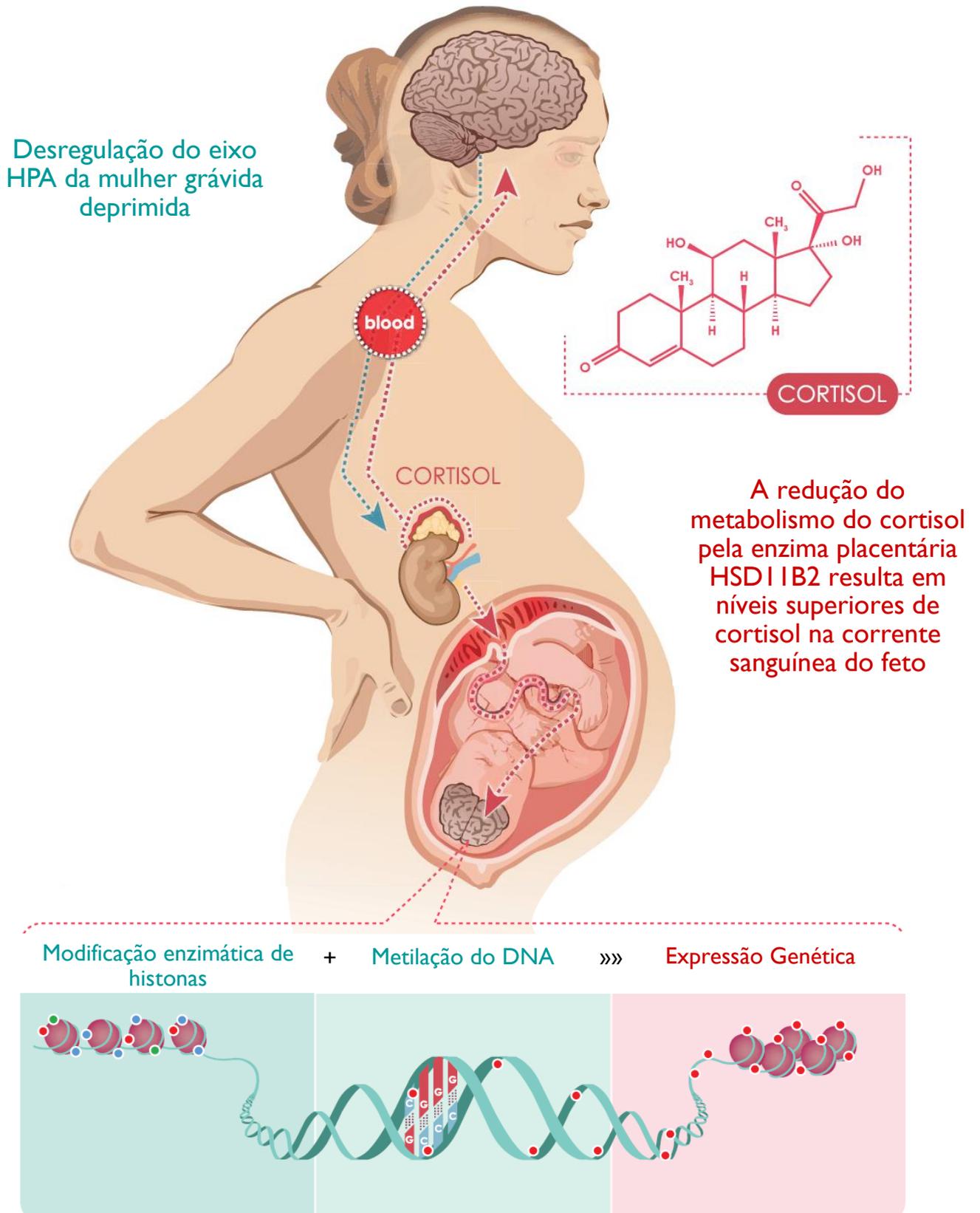


Figura 4 – Alteração de mecanismos epigenéticos pela depressão materna durante a gravidez. Parte superior da imagem: Durante a gravidez, os níveis de glucocorticoides aumentam progressivamente; no entanto, a depressão materna ou o *stress* crônico podem levar ao aumento da concentração do cortisol na corrente sanguínea materna. O cortisol lipofílico tem a capacidade de atravessar facilmente as barreiras sanguíneas e membranas celulares, mas a enzima placentária HSD11B2 degrada a maior parte do cortisol materno, protegendo o feto em desenvolvimento contra os efeitos negativos dos glucocorticoides ativos. Parte inferior: Mecanismos epigenéticos incluem modificação enzimática de histonas (por exemplo, acetilação, fosforilação e metilação, que são representadas por círculos azuis, verdes e vermelhos nos octâmeros de histonas castanhas) e metilação do DNA (grupos metil são representados por círculos vermelhos na posição C5 da citosina). A estrutura de eucromatina ativa é mostrada no lado esquerdo com marcas de acetilação de histonas. É importante salientar que há um *crossstalk* recíproco entre as modificações de histonas e a metilação do DNA nos processos reguladores da expressão genética. O aumento do nível de metilação do DNA e a perda de acetilação de histonas marcam a estrutura de heterocromatina inativa mostrada no lado direito. (Imagem adaptada de Nemoda & Szyf, 2017)

6. Genes candidatos a alterações epigenéticas

6.1 Gene codificador dos recetores glucocorticoides, NR3C1

Vários estudos têm proposto que o ambiente pré-natal tem uma influência duradoura no que diz respeito a mudanças no eixo HPA fetal. Assim, um dos elementos do eixo HPA, o gene que codifica os recetores glucocorticoides, NR3C1, é frequentemente alvo de estudos. (Nemoda & Szyf, 2017) A variação genética no gene NR3C1 mostrou prever os níveis basais de cortisol salivar. Perturbações na sua expressão podem levar à resistência aos glucocorticoides, um distúrbio que leva ao aumento da concentração de cortisol no plasma e na urina. (McKenna *et al.*, 2021)

Os glucocorticoides exercem efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores, que resultam de efeitos induzidos pela ligação aos recetores glucocorticoides, mas também de alterações na expressão genética, decorrentes da exposição a longo prazo a níveis elevados de glucocorticoides. Portanto, a metilação do gene NR3C1 relacionada ao *stress* pode atuar tanto a curto prazo, para inibir os efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores dos glucocorticoides, como a longo prazo, aumentando de forma crônica os níveis de glucocorticoides endógenos e alterando a expressão genética, aumentando a predisposição a doenças inflamatórias mediadas. (Nagarajan *et al.*, 2016)

Estudos epigenéticos sugerem que o gene NR3C1 está envolvido na transmissão da depressão entre gerações. Um estudo realizado por Oberlander *et al.* examinou a metilação

do gene NR3C1 e determinou que os bebês de mães deprimidas durante a gravidez, mais especificamente durante o terceiro trimestre de gravidez, exibiam um aumento da metilação do gene NR3C1 em comparação com bebês de mães não deprimidas. (McKenna *et al.*, 2021) Este aumento de metilação foi, por sua vez, associado ao aumento da concentração de cortisol na saliva dos bebês (McKenna *et al.*, 2021), confirmando assim, que o facto de ocorrer a metilação do gene NR3C1, leva a uma diminuição da expressão de recetores glucocorticoides e, conseqüentemente, a um aumento do cortisol no organismo. Estudos recentes associaram o aumento da metilação do gene NR3C1 a resultados prejudiciais à saúde do feto, incluindo aumento do risco de depressão, cancro e transtorno de personalidade limítrofe (transtorno caracterizado por um padrão generalizado de instabilidade em relacionamentos, autoimagem, humor e comportamento, bem como hipersensibilidade à possibilidade de rejeição e abandono). (Nagarajan *et al.*, 2016)

A análise de amostras de sangue do cordão umbilical de bebês nascidos de mães diagnosticadas com depressão durante o terceiro trimestre de gravidez indicou níveis elevados de metilação do DNA ao nível do gene NR3C1. Uma vez que a metilação do DNA leva à diminuição da expressão genética, ocorre uma diminuição da expressão do gene NR3C1 no bebê. Havendo uma diminuição dos recetores de glucocorticoides, ocorre um aumento do cortisol induzido por um estímulo de *stress*, uma vez que o mecanismo de *feedback* negativo do eixo HPA é alterado. (Vukic *et al.*, 2019) Por outro lado, no que diz respeito ao estado de saúde materno, o aumento dos níveis de metilação do gene NR3C1 está associado a uma dieta materna desequilibrada, ao *stress* e ansiedade maternos durante a gravidez e a pré-eclâmpsia (ressurgimento ou agravamento da hipertensão e proteinúria após 20 semanas de gestação). (Nagarajan *et al.*, 2016)

6.2 Gene codificador da proteína de ligação FK506 5, FKBP5

Outro gene que desempenha um papel na atividade do eixo HPA é o FKBP5, que codifica uma proteína co-chaperona (proteínas que auxiliam chaperonas no enovelamento de proteínas e outras funções) associada à modulação da interação do recetor de glucocorticoides envolvido na resposta adaptativa ao *stress*. A concentração intracelular de FKBP5 afeta a afinidade de ligação do recetor de glucocorticoides aos glucocorticoides. (Mendonça *et al.*, 2021)

Estudos realizados em mulheres grávidas permitiram concluir que o aumento da metilação no gene FKBP5 está associado a níveis elevados de *stress*, quantificados a partir de movimentos do feto e da frequência cardíaca. (Nemoda & Szyf, 2017)

6.3 Gene codificador da 11- β -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 2, HSD11B2

Oitenta a noventa por cento do cortisol materno é metabolizado enquanto passa pela placenta, embora níveis mais altos de cortisol materno, induzidos pelo *stress*, possam sobrecarregar ou alterar este metabolismo realizado pela enzima 11- β -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 2, levando a níveis mais altos de exposição fetal ao cortisol, o que pode ter efeitos prejudiciais no feto e no recém-nascido. (Conradt *et al.*, 2013)

O gene HSD11B2 codifica a enzima 11- β -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 2, expressa na placenta e responsável pela metabolização do cortisol na sua forma inativa, cortisona. (Nemoda & Szyf, 2017) Desta forma, reduz a exposição fetal aos glucocorticoides da corrente sanguínea materna.

A ansiedade e *stress* maternos têm sido associados ao aumento da metilação deste gene, fazendo com que haja uma menor expressão da enzima. Assim, a exposição fetal ao cortisol materno irá aumentar, podendo levar a alterações na função do eixo HPA fetal e a alterações ao nível do neurodesenvolvimento (Figura 5). (Conradt *et al.*, 2013)

Um estudo realizado em 2014 encontrou uma elevada taxa de metilação do gene HSD11B2, com consequente subexpressão da enzima 11- β -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 2, em bebês clinicamente diagnosticados com restrição de crescimento intrauterino, ou seja, quando o feto não atinge o potencial de crescimento geneticamente determinado para a sua idade gestacional (Figura 5). (Nagarajan *et al.*, 2016)

6.4 Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro, BDNF

Tendo em conta o papel potencial desempenhado no mecanismo patológico dos transtornos depressivos, o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) também tem estado no centro de estudos epigenéticos. (Nemoda & Szyf, 2017) O BDNF, um gene envolvido na neuroplasticidade, isto é, na capacidade do sistema nervoso adaptar-se e moldar-se a nível estrutural e funcional ao longo do desenvolvimento neuronal e quando sujeito a novas experiências, tem sido associado ao *stress* traumático. Um estudo realizado em murganhos mostrou que, quando fêmeas grávidas foram expostas ao *stress* durante a gravidez, as suas crias apresentavam uma diminuição da expressão de BDNF. Isso correlacionou-se com o aumento dos níveis de metilação do DNA no promotor desse gene, isto é, na região do DNA que inicia a transcrição do gene. (Vukic *et al.*, 2019)

resultados programados adversos a longo prazo, incluindo sequelas metabólicas e cerebrais. (Imagem adaptada de Reynolds, 2013)

O cortisol circulante na corrente sanguínea materna, ao atingir o feto durante o neurodesenvolvimento, pode afetar a maturação do eixo HPA fetal. Assim sendo, a atividade do eixo HPA pode ficar comprometida. A exposição fetal a níveis elevados de cortisol compromete a expressão de recetores de glucocorticoides, diminuindo a quantidade de recetores de glucocorticoides ao nível do hipocampo. Assim, a atividade do eixo HPA sofre alterações, isto é, o mecanismo de *feedback* negativo inibitório que controla os níveis de cortisol é alterado. Por outras palavras, a capacidade do feto conseguir lidar com estímulos de *stress* na sua vida futura é alterada, fazendo com que possa desenvolver ansiedade ou até mesmo depressão. (Rakers *et al.*, 2020)

Para além do eixo HPA, a atividade dos neurotransmissores e a plasticidade sináptica podem também sofrer alterações, resultando em mudanças subtis ou drásticas no comportamento e cognição. (Harris & Seckl, 2011) O período fetal é fundamental para o desenvolvimento do cérebro humano, e a forma como se desenvolve pode ser influenciada pelo ambiente. O desenvolvimento do cérebro fetal é dividido em três fases: período embrionário (da concepção até a oitava semana de gestação), período fetal inicial (até metade da gestação) e período fetal tardio (desde metade da gestação até o nascimento). O cérebro fetal está, portanto, em desenvolvimento ao longo de toda a gestação, podendo ser afetado por estímulos externos. O tempo de gestação em que o *stress* ocorre, bem como o nível de desenvolvimento do cérebro fetal podem afetar as potenciais consequências que possam ocorrer. (Lautarescu *et al.*, 2020)

A maioria dos estudos realizados em humanos recorreram à ressonância magnética e à eletroencefalografia para estudar os efeitos da depressão e *stress* maternos pré-natal no desenvolvimento do cérebro da descendência. A eletroencefalografia permitiu concluir que a depressão materna durante a gravidez tem sido relacionada com a existência de alterações na morfologia do cérebro de crianças. Estas alterações são vistas como indicadores de risco para desenvolver afetividade negativa (experiência de emoções como a raiva, a culpa, o medo e o nervosismo), inibição comportamental (medo extremo face a situações novas) e sintomas de ansiedade. (Lautarescu *et al.*, 2020)

A amígdala é uma estrutura cerebral, localizada no lobo temporal, que está envolvida na regulação do sistema emocional do cérebro. O aumento do volume da amígdala, observado em ressonâncias magnéticas realizadas a crianças cujas mães experienciaram estímulos de *stress* durante a gravidez, pode estar relacionado com o do aumento da ansiedade e estado de

vigilância. Por outro lado, a redução de massa cinzenta é consistente com o desenvolvimento de depressão e problemas cognitivos. (Lautarescu *et al.*, 2020)

Em países desenvolvidos demonstrou-se que a depressão pré-natal e outras formas de stress estão interligadas ao desenvolvimento de patologias na criança na área da saúde mental, sendo elas a ansiedade, depressão e hiperatividade. (Herba *et al.*, 2016)

Investigações que tentaram relacionar a influência do ambiente pré-natal na saúde da vida da descendência têm notado uma redução da idade gestacional, bem como uma redução do peso do bebê ao nascer. Níveis aumentados de CRH no sangue materno e no cordão umbilical foram detetados em nascimentos prematuros. Estudos posteriores usaram a idade gestacional e o baixo peso ao nascer como indicadores de stress pré-natal e encontraram maior incidência de problemas emocionais, ansiedade e sintomas depressivos nessas crianças, comparadas com as de peso e idade gestacional normais. Para além disso, evidências epidemiológicas mostraram que a exposição fetal a níveis elevados de glucocorticoides e a restrição de crescimento intrauterino, levam a uma maior predisposição ao desenvolvimento de *diabetes mellitus*. (Weinstock, 2008)

8. Modelos animais

Durante o período pré-natal, determinados estímulos ambientais condicionam a metilação do DNA. Estudos não clínicos, realizados em roedores, em que se avaliou o cuidado materno em relação às crias, mostraram que a resposta ao stress é afetada pelo cuidado materno.

Mas de que forma é que o comportamento materno pode alterar a atividade do eixo HPA na descendência? Cuidados maternos pobres desencadeiam mudanças ao nível da cromatina e da metilação do DNA, mais especificamente no promotor do gene responsável pela expressão de recetores de glucocorticoides no hipocampo. Conclui-se que o aumento da metilação do DNA do promotor do gene referido anteriormente, com subsequente redução da expressão do recetor de glucocorticoide na descendência, resulta num mecanismo de *feedback* negativo do eixo HPA menos eficaz e uma resposta ao stress aumentada. (Nemoda & Szyf, 2017)

St-Cyr & McGowan realizaram um estudo em roedores, expondo fêmeas grávidas a diferentes odores de predadores na última metade da gestação. O objetivo consistia em expor as fêmeas grávidas a estímulos de stress e observar o fenótipo da descendência. Crias de mães expostas aos estímulos desenvolveram um aumento de comportamentos relacionados ao

stress, incluindo comportamentos defensivos e de avaliação de risco. Crias masculinas cujas mães foram expostas a odores de predadores, aproximaram-se menos vezes da área que continha os mesmos odores, comparadas a crias controle, cujas mães não foram expostas aos odores. Por outro lado, as crias femininas mostraram uma maior ativação do eixo HPA. Para além disso, a exposição aos odores de predadores por parte da fêmea grávida afetou o comportamento das crias. A procura por alimento e a exploração de áreas, avaliadas através de tarefas padronizadas em laboratório, foram afetadas, apresentando comportamento semelhante ansiedade. (Matthews & McGowan, 2019)

Conclusão

A depressão materna durante a gravidez afeta não só a mulher grávida, mas também o feto. A ansiedade e stress vividos por parte da grávida durante a gestação, devido ao quadro depressivo, afetam as barreiras protetoras do bebé contra os níveis elevados de glucocorticoides.

Tanto estudos realizados em animais, quanto estudos realizados em humanos demonstraram que a exposição fetal pré-natal ao excesso de glucocorticoides pode resultar em alterações na metilação do DNA e na modificação enzimática de histonas. Estas alterações, ao ocorrerem em genes que codificam proteínas envolvidas na regulação do eixo HPA, bem como as que estão envolvidas no metabolismo do cortisol, poderão levar a uma disfunção do eixo HPA do feto, aumentando a probabilidade de desenvolvimento de futuras patologias do foro psicológico e mental, tais como ansiedade, depressão e hiperatividade. Por outro lado, as alterações dos mecanismos epigenéticos podem também refletir-se a outros níveis, isto é, podem aumentar o risco de desenvolver resistência à insulina e hipertensão arterial.

Por fim, cabe-nos a nós, como farmacêuticos e profissionais de saúde, estarmos atentos a este tipo de situações. Estarmos alertas no que diz respeito ao estado de saúde da grávida, pode evitar que quadros de ansiedade evoluam para situações extremas. Faz parte das nossas competências sabermos escutar e estar atentos aos sinais que os utentes nos transmitem.

Bibliografia

- Bennett, H. A., Einarson, A., Taddio, A., Koren, G., & Einarson, T. R. (2004). Prevalence of depression during pregnancy: Systematic review. *Obstetrics and Gynecology*, *103*(4), 698–709. <https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000116689.75396.5f>
- Cedar, H., & Bergman, Y. (2009). Linking DNA methylation and histone modification: Patterns and paradigms. *Nature Reviews Genetics*, *10*(5), 295–304. <https://doi.org/10.1038/nrg2540>
- Cole, T. J., Short, K. L., & Hooper, S. B. (2019). The science of steroids. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, *24*(3), 170–175. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2019.05.005>
- Conradt, E., Lester, B. M., Appleton, A. A., Armstrong, D. A., & Marsit, C. J. (2013). The roles of DNA methylation of NR3C1 and 11 β -HSD2 and exposure to maternal mood disorder in utero on newborn neurobehavior. *Epigenetics*, *8*(12), 1321–1329. <https://doi.org/10.4161/epi.26634>
- Davalos, D. B., Yadon, C. A., & Tregellas, H. C. (2012). Untreated prenatal maternal depression and the potential risks to offspring: A review. *Archives of Women's Mental Health*, *15*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s00737-011-0251-1>
- Harris, A., & Seckl, J. (2011). Glucocorticoids, prenatal stress and the programming of disease. *Hormones and Behavior*, *59*(3), 279–289. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2010.06.007>
- Herba, C. M., Glover, V., Ramchandani, P. G., & Rondon, M. B. (2016). Maternal depression and mental health in early childhood: an examination of underlying mechanisms in low-income and middle-income countries. *The Lancet Psychiatry*, *3*(10), 983–992. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(16\)30148-1](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)30148-1)
- Juruena, M. F., Gadelrab, R., Cleare, A. J., & Young, A. H. (2021). Epigenetics: A missing link between early life stress and depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *109*(September 2020), 110231. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.110231>
- Latendresse, G., Elmore, C., & Deneris, A. (2017). Selective Serotonin Reuptake Inhibitors as First-Line Antidepressant Therapy for Perinatal Depression. *Journal of Midwifery and Women's Health*, *62*(3), 317–328. <https://doi.org/10.1111/jmwh.12607>
- Lautarescu, A., Craig, M. C., & Glover, V. (2020). Prenatal stress: Effects on fetal and child brain development. In *International Review of Neurobiology* (1st ed., Vol. 150). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2019.11.002>

- Mahar, I., Bambico, F. R., Mechawar, N., & Nobrega, J. N. (2014). Stress, serotonin, and hippocampal neurogenesis in relation to depression and antidepressant effects. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *38*, 173–192. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.11.009>
- Matthews, S. G., & McGowan, P. O. (2019). Developmental programming of the HPA axis and related behaviours: Epigenetic mechanisms. *Journal of Endocrinology*, *242*(1), T69–T79. <https://doi.org/10.1530/JOE-19-0057>
- McKenna, B. G., Hammen, C., & Brennan, P. A. (2021). HPA-axis multilocus genetic profile score moderates the association between maternal prenatal perceived stress and offspring depression in early adulthood. *Development and Psychopathology*, *33*(1), 122–134. <https://doi.org/10.1017/S0954579419001639>
- Mendonça, M. S., Mangiavacchi, P. M., & Rios, Á. F. L. (2021). Regulatory functions of FKBP5 intronic regions associated with psychiatric disorders. *Journal of Psychiatric Research*, *143*(April), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2021.08.014>
- Moore, L. D., Le, T., & Fan, G. (2013). DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacology*, *38*(1), 23–38. <https://doi.org/10.1038/npp.2012.112>
- Mourtzi, N., Sertedaki, A., & Charmandari, E. (2021). Glucocorticoid signaling and epigenetic alterations in stress-related disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(11). <https://doi.org/10.3390/ijms22115964>
- Nagarajan, S., Seddighzadeh, B., Baccarelli, A., Wise, L. A., Williams, M., & Shields, A. E. (2016). Adverse maternal exposures, methylation of glucocorticoid-related genes and perinatal outcomes: A systematic review. *Epigenomics*, *8*(7), 925–944. <https://doi.org/10.2217/epi.16.9>
- Nemoda, Z., & Szyf, M. (2017). Epigenetic Alterations and Prenatal Maternal Depression. *Birth Defects Research*, *109*(12), 888–897. <https://doi.org/10.1002/bdr2.1081>
- Pearlstein, T. (2015). Depression during Pregnancy. *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*, *29*(5), 754–764. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2015.04.004>
- Pofi, R., & Tomlinson, J. W. (2020). Glucocorticoids in pregnancy. *Obstetric Medicine*, *13*(2), 62–69. <https://doi.org/10.1177/1753495X19847832>
- Rakers, F., Rupprecht, S., Dreiling, M., Bergmeier, C., Witte, O. W., & Schwab, M. (2020). Transfer of maternal psychosocial stress to the fetus. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *117*, 185–197. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.02.019>

- Reynolds, R. M. (2013). Glucocorticoid excess and the developmental origins of disease: Two decades of testing the hypothesis - 2012 Curt Richter Award Winner. *Psychoneuroendocrinology*, 38(1), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2012.08.012>
- Shearer, F. J. G., Wyrwoll, C. S., & Holmes, M. C. (2019). The Role of 11 β -Hydroxy Steroid Dehydrogenase Type 2 in Glucocorticoid Programming of Affective and Cognitive Behaviours. *Neuroendocrinology*, 109(3), 257–265. <https://doi.org/10.1159/000499660>
- Solano, M. E., & Arck, P. C. (2020). Steroids, Pregnancy and Fetal Development. *Frontiers in Immunology*, 10(January), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03017>
- Turkheimer, E., & Waldron, M. (2019). Depression definition and DSM-5 Diagnostic criteria. In *Psychological Bulletin* (Vol. 126, Issue 1, p. 21). <https://www.psychom.net/depression/major-depressive-disorder/dsm-5-depression-criteria>
- Vukic, M., Wu, H., & Daxinger, L. (2019). Making headway towards understanding how epigenetic mechanisms contribute to early-life effects. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 374(1770). <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0126>
- Weinstock, M. (2008). The long-term behavioural consequences of prenatal stress. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 32(6), 1073–1086. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.03.002>
- Wood, C. E., & Walker, C. D. (2016). Fetal and neonatal HPA axis. *Comprehensive Physiology*, 6(1), 33–62. <https://doi.org/10.1002/cphy.c150005>