



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Joana Filipa de Oliveira Madeira

Relatórios de Estágio sob a orientação da Doutora Sofia Velho da Palma e da Doutora Ana Luísa Santos e Monografia intitulada “Nrf2 como Alvo Terapêutico em Dermatologia” sob a orientação da Professora Doutora Maria Manuel Cruz Silva, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Julho de 2023



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

**Joana Filipa de Oliveira Madeira**

Relatórios de Estágio sob a orientação da Doutora Sofia Velho da Palma e da Doutora Ana Luísa Santos e Monografia intitulada “Nrf2 como Alvo Terapêutico em Dermatologia” sob a orientação da Professora Doutora Maria Manuel Cruz Silva, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Julho de 2023

Eu, Joana Filipa de Oliveira Madeira, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2017248509, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Nrf2 como alvo terapêutico em Dermatologia” 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, 14 de julho de 2023,

---

Joana Madeira (assinatura)

## **Agradecimentos**

Aos meus pais, por terem acreditado em mim desde o início, por todos os dias me motivarem a ser melhor em cada coisa que faço e porque sem eles nada disto teria sido possível.

À minha irmã por ser um exemplo constante a seguir e pela resiliência que tanto a caracteriza.

Aos meus avós, por serem um pilar para mim e me desejarem sempre o melhor.

Ao João, por todo o amor e apoio incondicional.

À Doutora Sofia Velho da Palma e a toda a equipa da Farmácia Azevedos por toda a paciência, dedicação e ensinamentos constantes que me transmitiram, e acima de tudo por todo o carinho com que sempre me habituaram. Fizem desta experiência um gosto e levarei comigo grandes recordações. Um obrigada nunca será suficiente.

À Doutora Ana Luísa Santos e a toda a equipa Cantabria Labs Portugal, por todos os ensinamentos que me transmitiram.

À Professora Doutora Maria Manuel Silva, minha orientadora, um agradecimento especial. Por toda a disponibilidade, conhecimento e motivação mostradas ao longo de todo o processo e percurso académico.

Às minhas duas afilhadas, por terem sido um apoio constante e por terem contribuído para que estes anos fossem inesquecíveis.

Às minhas amigas, por todos os momentos que vivenciamos juntas e por me acompanharem em todas as etapas da minha vida académica e pessoal.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e a todos os docentes, por todos os ensinamentos durante estes seis anos.

## Índice

<b>PARTE I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária.....</b>	<b>7</b>
Lista de abreviaturas.....	8
1. Introdução.....	9
2. Farmácia Azevedos.....	10
3. Análise SWOT .....	11
3.1. Pontos Fortes.....	11
3.1.1. Localização Geográfica .....	11
3.1.2. Equipa.....	12
3.1.3. Múltiplos Serviços Farmacêuticos.....	12
3.1.4. Laboratório Proativo em Manipulados.....	13
3.1.5. Ortopedia e Dermocosmética .....	13
3.2. Pontos Fracos .....	14
3.2.1. Farmácia de passagem.....	14
3.2.2. Produtos Veterinários .....	14
3.2.3. Escassa aposta em comunicação digital nas redes sociais .....	15
3.3. Oportunidades.....	15
3.3.1. Consolidação de conhecimentos técnico-científicos e valores transmitidos .....	15
3.3.2. Formações internas.....	16
3.4. Ameaças .....	16
3.4.1. Concorrência.....	16
3.4.2. Medicamentos esgotados.....	17
3.4.3. Relutância perante os Medicamentos Genéricos.....	18
3.4.4. Utentes que pretendem adquirir MSRM sem prescrição.....	18
4. Casos Clínicos.....	18
5. Conclusão/Considerações Finais .....	21
6. Referências Bibliográficas.....	23
<b>PARTE II – Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica.....</b>	<b>24</b>
Lista de Abreviaturas.....	25
1. Introdução .....	26
1.1. Cantabria Labs Portugal.....	26
1.2. Departamento Técnico e de Formação.....	26
2. Análise SWOT .....	27

2.1. Pontos Fortes.....	28
2.1.1. Integração na equipa.....	28
2.1.2. Autonomia na realização de tarefas.....	28
2.1.3. Reuniões interdepartamentais .....	29
2.1.4. Formação da Equipa Comercial e de Visita Médica.....	29
2.2. Pontos Fracos .....	30
2.2.1. Impossibilidade de integrar outros departamentos.....	30
2.3. Oportunidades.....	30
2.3.1. Desenvolvimento de competências.....	30
2.3.2. Contacto com a realidade do setor .....	31
2.4. Ameaças .....	32
2.4.1. Plano de estudos.....	32
2.4.2. Empresas concorrentes.....	32
3. Considerações finais .....	33
4. Referências Bibliográficas.....	34
<b>PARTE III – “O Nrf2 como alvo terapêutico em dermatologia” .....</b>	<b>35</b>
Resumo .....	36
Abstract .....	36
Lista de Abreviaturas.....	37
Introdução.....	38
1. A Pele e a dermatologia .....	39
1.1. Estrutura da pele .....	39
1.2. Influência do expossoma na pele .....	42
2. O papel do Nrf2 nas patologias cutâneas .....	43
2.1. Ativação celular via Nrf2 .....	43
2.1.1. Mecanismos celulares- via dependente e independente de Keap-1 .....	44
2.2. Benefícios da ativação do Nrf2 na pele .....	45
2.2.1. Efeito antioxidante e anti-inflamatório da ativação do Nrf2.....	46
3. Aplicações do Nrf2 em dermocosmética.....	47
3.1. Fotoproteção e antienvelhecimento .....	47
3.2. Pigmentação cutânea .....	51
3.3. Inflamação e função barreira da pele .....	52
3.4. Folículo capilar .....	54
4. Moduladores de Nrf2 como pesquisa estratégica no tratamento da pele e couro cabeludo .....	56

4.1. Vias estratégicas Keap1 dependentes .....	56
4.1.1. Agentes eletrofílicos .....	58
4.1.2. Compostos naturais .....	61
4.1.3. Regulação epigenética .....	65
5. Conclusões e Perspetivas Futuras .....	67
6. Referências Bibliográficas .....	69

# PARTE I

## Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

### Farmácia Azevedos

Sob orientação da Dra. Sofia Velho da Palma



## **Lista de abreviaturas**

**DCI** - Denominação Comum Internacional

**FA** - Farmácia Azevedos

**FC** - Farmácia Comunitária

**MG** - Medicamentos Genéricos

**MICF** - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**MNSRM** - Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

**MSRM** - Medicamento Sujeito a Receita Médica

**PCHC** - Produtos Cosméticos e de Higiene Corporal

**SWOT** - *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

## **I. Introdução**

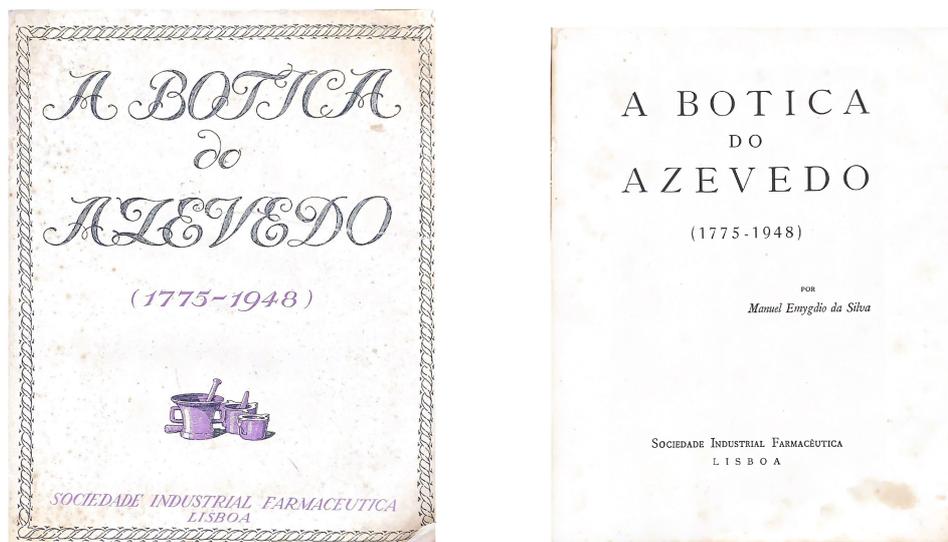
A Farmácia Comunitária (FC) é o ramo da atividade farmacêutica mais representativo na sociedade deste setor profissional, sendo um espaço que se diferencia pela prestação de cuidados de saúde de grande relevância à população. Trata-se de uma unidade de saúde que integra um vasto número de profissionais preparados para apoiar a comunidade, tanto na prevenção como no tratamento e aconselhamento na área da saúde, sendo, por isso, um local de proximidade e confiança reconhecido pelos utentes.

O farmacêutico comunitário é um especialista do medicamento e agente de saúde pública, sendo distinguido como um profissional de saúde versátil com uma grande capacidade de adaptação e resposta a novos desafios, tendo sempre em vista o bem-estar do utente e da comunidade para a promoção da saúde pública.(1)

A realização deste estágio revela-se imprescindível na conclusão do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), de modo a experienciar a interação farmacêutico-doente-medicamento, complementar e aplicar toda a informação teórica e conhecimentos técnico-científicos adquiridos ao longo dos cinco anos de curso.

Realizei o estágio Curricular em FC, com duração de quatro meses, na Farmácia Azevedos (FA), sob a orientação da Diretora Técnica, Dra. Sofia Velho da Palma.

## 2. Farmácia Azevedos



**Figura I** - Capa e frontispício da obra *A Botica do Azevedo (1775-1948)* (1948), de Manuel Emygdio da Silva.

A Farmácia Azevedos, localizada em Lisboa, tem uma história largamente conhecida. Desde o século XVIII disponibiliza uma ampla gama de medicamentos, incluindo um laboratório de medicamentos manipulados diariamente solicitado. A sua fundação remonta o ano de 1775 e foi uma das primeiras boticas a abrir após o terramoto desse mesmo ano na cidade de Lisboa. A conhecida Botica do Azevedo, o apelido de um dos primeiros proprietários, António Feliciano de Alves Azevedo, teve inicialmente um papel importante não só de comércio de medicamentos e químicos, mas também servia como ponto de referência cultural no Rossio. De notar que é feita referência à “Botica do Azevedo” no capítulo X do célebre romance *Os Maias* de Eça de Queirós, o que demonstra a sua popularidade e notoriedade deste espaço no século XIX.

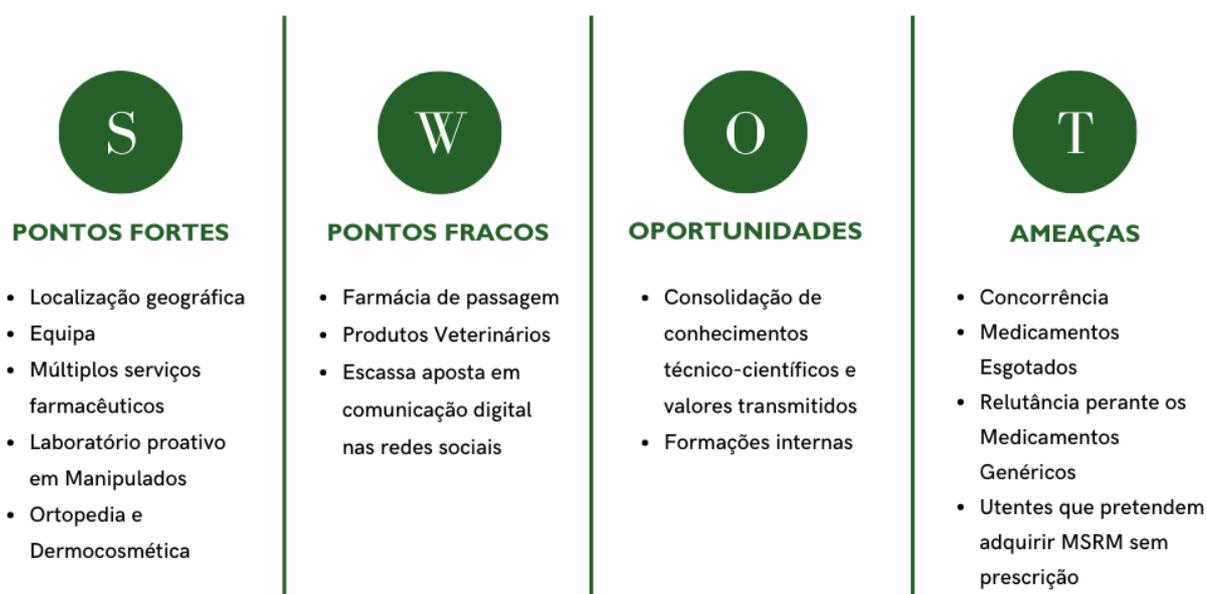
Atualmente, ainda é reconhecida pela farmácia onde se encontram variados tipo de produtos e medicamentos. Dispõe de serviço personalizado de aconselhamento de dermocosmética, com um segmento muito diversificado. Possui uma vasta e completa gama de produtos de ortopedia. A Farmácia Azevedos coloca ao dispor dos utentes consultas de nutrição e de podologia e diariamente administração de medicamentos injetáveis e vacinas.

Dispõe de um sistema robotizado para entrega automática de medicamentos desde o armazém até ao balcão de venda onde se atendem pessoas de todo o mundo, de todas as

idades, género e condição social. É exigido que a equipa esteja em constante formação, uma vez que tudo o que é solicitado é de um elevado grau de exigência pela população heterogénea de vários graus culturais, de conhecimento e económicos que tem.

### 3. Análise SWOT

De modo a analisar o meu período de estágio curricular na Farmácia Azevedos, desenvolvi uma análise SWOT que visa explicar os Pontos Fortes (*S – Strengths*), Pontos Fracos (*W – Weaknesses*), Oportunidades (*O – Opportunities*) e Ameaças (*T – Threats*) sentidas ao longo do estágio. Os pontos fortes e fracos visam refletir fatores internos à instituição que representaram vantagens e desvantagens para o sucesso do estágio. Por outro lado, as oportunidades e ameaças, são consideradas a partir de uma perspetiva externa, com o objetivo de destacar os aspetos positivos e negativos que estão fora da esfera de influência direta da instituição.



**Figura 2** - Resumo dos pontos abordados na análise SWOT.

#### 3.1. Pontos Fortes

##### 3.1.1. Localização Geográfica

A FA encontra-se numa zona privilegiada da baixa de Lisboa (Praça D. Pedro IV, 31), tendo uma grande proximidade com zonas altamente turísticas como o Chiado, Rua Augusta e Praça do Comércio. Devido à sua excelente localização, a FA atende a uma ampla diversidade de utentes diariamente, o que permite à equipa lidar com grande variedade de

casos clínicos, desde utentes com problemas de saúde crónicos até jovens adultos que procuram cuidados de saúde e bem-estar.

Desta forma, a capacidade de adaptação da equipa é ampliada de forma significativa, permitindo que esteja sempre informada e atualizada sobre a grande variedade de medicamentos e tratamentos disponíveis no mercado, o que se revela extremamente útil.

Fruto da localização da farmácia, a ocorrência de filas de espera é uma situação recorrente. Embora as filas de espera possam ser uma fonte de agitação e *stress*, acaba por permitir ganhar elevada experiência no atendimento ao público em situações de maior tensão, fornecendo igualmente um atendimento de qualidade aos seus utentes.

### **3.1.2. Equipa**

O ambiente da equipa de trabalho é crucial, tendo tido uma influência enorme no sucesso do meu estágio.

A equipa da FA destacou-se desde início pela sua organização, pelo seu dinamismo e pela sua flexibilidade. Trabalham juntos de modo a garantir que os utentes recebam os cuidados de saúde de que necessitam, proporcionando-lhes sempre um atendimento e aconselhamento adequados. Além disso, a equipa é muito proativa, estando sempre disposta a ajudar cada membro, oferecendo suporte e orientação sempre que seja necessário. Acredito que graças a este ambiente e ao profissionalismo demonstrado, a equipa seja capaz de se adaptar rapidamente às mudanças e necessidades dos pacientes.

Fui recebida de forma acolhedora e senti diariamente que todos contribuíam para a minha integração e aprendizagem. Destaco a compreensão e tolerância demonstrada aos erros cometidos, e a forma como me ajudaram a aprender com eles, mostrando-me como os resolver, incentivando-me a ser autónoma na sua resolução. Tenho uma enorme gratidão por todos os membros desta equipa, já que desempenharam um papel fundamental no meu crescimento profissional e pessoal, bem como por todos os conhecimentos e valores transmitidos.

### **3.1.3. Múltiplos Serviços Farmacêuticos**

As farmácias são estabelecimentos de saúde que vão para além da dispensa de medicamentos. A FA não é exceção, oferecendo serviços farmacêuticos aos utentes, proporcionando um atendimento mais completo e personalizado.

Entre os serviços mais comuns prestados pela FA estão as consultas de nutrição dadas por um nutricionista. Com o aumento da preocupação com a alimentação saudável e o aumento da incidência de doenças crónicas relacionadas com a alimentação, estas consultas surgem como uma alternativa acessível e conveniente para quem pretende cuidar

da sua saúde através da alimentação. Outro serviço é a consulta de podologia, uma especialidade de saúde dedicada ao cuidado, tratamento e prevenção no pé.

Além disso, estão presentes diariamente conselheiras de dermocosmética que oferecem aconselhamento personalizado e realização de limpezas de pele. Estes serviços acabam por ser uma mais-valia, ajudando a prevenir problemas de pele e a manter uma aparência saudável e jovem. Embora não tão frequente, existe a realização de medição de parâmetros bioquímicos, como a glicémia e a pressão arterial, cruciais para o acompanhamento de doenças crónicas e prevenção de problemas de saúde. Por último, a administração de injetáveis, como as vacinas, constitui um serviço de extrema importância e de valorização para o farmacêutico.

#### **3.1.4. Laboratório Proativo em Manipulados**

O Laboratório de Manipulados da FA é amplamente conhecido por produzir medicamentos manipulados, sendo frequentemente solicitado pelos pacientes. O laboratório possui instalações laboratoriais com elevado padrão de higiene e qualidade, de acordo com as normas legais o exigem (2).

Considerando que a Indústria Farmacêutica está em constante evolução na preparação de medicamentos, a manipulação galénica é cada vez menos comum. No entanto, em algumas situações é necessário preparar medicamentos de forma individualizada, de modo a atender às necessidades específicas de determinados pacientes, como em casos de medicamentos que não existem no mercado ou que ainda não tenham sido introduzidos, e ajustes de dose.(3)

No decorrer do estágio, tive a possibilidade de auxiliar a farmacêutica responsável na produção de medicamentos manipulados em diversas prescrições médicas, desde a cápsulas de Minoxidil, creme de Permetrina, vaselina salicilada a 10%, creme de Hidroquinona, entre outros. Além disso, presenciei todas as etapas necessárias de forma a garantir as boas práticas da preparação de medicamentos manipulados, desde os materiais de embalagem e matérias-primas à elaboração da ficha de preparação do manipulado, controlo de qualidade e cálculo de preços.

#### **3.1.5. Ortopedia e Dermocosmética**

A ampla variedade de produtos e marcas de Dermocosmética e Ortopedia é uma das características mais importantes da FA, permitindo atender às necessidades dos utentes de forma mais completa e eficiente.

O caso da vertente de Dermocosmética é bastante significativo, uma vez que ajuda a atender as preferências pessoais dos clientes. A indústria cosmética está em crescente

desenvolvimento, com produtos cada vez mais adaptados a todos os tipos de pele e a afeções cutâneas não tão comuns, mas que afetam significativamente a pele. Assim, é necessário que as farmácias consigam gerir e proporcionar aos utentes esta mais-valia, como é o caso da FA.

Já na Ortopedia, a variedade é igualmente relevante, uma vez que cada paciente tem necessidades únicas em termos de cuidados ortopédicos, o que pode incluir o uso de palmilhas ortopédicas, meias compressivas e de descanso, cintas, entre outros produtos. Ter esta ampla variedade de opções permite que se possa dispensar o produto mais adequado a cada paciente, de acordo com a sua condição médica e prescrição.

Além disso, este fator é visto como um diferencial competitivo, o que atrai muitos clientes que se dirigem propositadamente à FA, procurando atendimento individualizado e soluções específicas para as suas necessidades.

## **3.2. Pontos Fracos**

### **3.2.1. Farmácia de passagem**

Como consequência da excelente localização da FA, acaba por se tornar numa “farmácia de passagem”, atendendo maioritariamente utentes turistas e não fidelizados a nenhuma farmácia em específico. Apesar de ter muitos utentes de nacionalidade portuguesa, grande parte não a considera como farmácia habitual.

Este fator implica considerar as necessidades de todos os utentes, incluindo turistas, tendo necessidade de possuir uma ampla variedade de medicamentos e outros produtos farmacêuticos e de saúde de marcas específicas que são populares em diferentes países.

Assim, para garantir que os turistas escolham a FA em detrimento de outras, é essencial que a farmácia tenha um *stock* bem estabelecido e diversificado. Para isso contribui igualmente o atendimento, devendo ser agradável e adaptado, de forma a que se consiga comunicar efetivamente com utentes de diferentes nacionalidades e origens.

### **3.2.2. Produtos Veterinários**

O aconselhamento e rotação de produtos veterinários na FA é muito escasso, graças à sua localização e ao tipo de utentes que frequentam diariamente a farmácia.

Apesar de não ter sido muito frequente, os casos que surgiam com receitas médicas veterinárias deixavam-me um pouco insegura e desconfortável. Na minha opinião, esta dificuldade deveu-se essencialmente à falta de conhecimentos sólidos nesta área que existiu na unidade curricular Preparações de Uso Veterinário do MICF. Considero que o conteúdo programático desta unidade curricular se encontra um pouco desajustado à realidade

profissional do farmacêutico comunitário devendo talvez, por isso, ser mais centrado no que a comunidade necessita e no seu aconselhamento. Contudo, existiram igualmente atendimentos em que o utente pretendia adquirir produtos já utilizados nos seus animais de estimação de forma frequente e, por isso, não necessitava de um aconselhamento tão detalhado.

Deste modo, as poucas oportunidades que tive em atendimentos deste domínio farmacêutico, limitaram o meu desenvolvimento técnico e científico. Além disso, a minha visão e perspetiva sobre este tipo de produtos ficaram restringidas, dado que não tive a oportunidade de experienciar um ambiente com elevada rotatividade destes produtos.

### **3.2.3. Escassa aposta em comunicação digital nas redes sociais**

A relação presencial entre farmacêutico e cliente, considerada fundamental no conceito de farmácia, tem sofrido algumas mudanças nos últimos tempos.

Atualmente, o mundo digital é uma presença constante na rotina de todas as pessoas, desempenhando um papel crucial na sustentabilidade de muitos negócios. Já existem diversos estudos realizados que demonstram que o *online shopping* e o *e-commerce* têm sido uma tendência crescente.<sup>4</sup> Além disso, a disponibilização de informação em tempo real tem permitido a consciencialização da população sobre diversos temas de saúde, apresentando-se como uma ferramenta de divulgação de campanhas e programas para a literacia em saúde, prevenção da doença e promoção de estilos de vida saudáveis. A comunicação pode ser realizada em vários formatos, através da divulgação de vídeos curtos, envio de *newsletters* informativas, realização de perguntas e respostas sobre tópicos de saúde pública, entre outros.<sup>(4)</sup>

Com a finalidade de promover tanto os seus múltiplos serviços farmacêuticos como os seus artigos de cosmética, a Farmácia Azevedos necessitava de melhorar a sua presença nas redes sociais, de modo a abrir o seu leque de oportunidades nestas plataformas.

Desta forma, acredito que as farmácias se devem adaptar a esta realidade, acompanhando as tendências atuais e futuras, uma vez que os consumidores valorizam cada vez mais a presença digital, o que pode contribuir para aumentar a visibilidade da farmácia.

## **3.3. Oportunidades**

### **3.3.1. Consolidação de conhecimentos técnico-científicos e valores transmitidos**

Com a realização do estágio curricular na FA, tive a possibilidade de consolidar e aplicar os conhecimentos adquiridos em várias unidades curriculares do MICEF, com particular destaque em Avaliação Farmacoterapêutica em Cuidados Primários de Saúde,

Indicação Farmacêutica, Dermofarmácia e Cosmética, e Farmácia Galénica. Pude igualmente explorar áreas nas quais os meus conhecimentos eram mais limitados, especialmente no domínio da Ortopedia.

O facto de ter experienciado o contacto direto com utentes e colegas profissionais da área farmacêutica, proporcionou-me aprimorar e alargar os meus conhecimentos técnicos e científicos, desenvolvendo capacidade crítica em relação a determinados tipos de aconselhamento farmacêutico.

Uma das principais mais valias e ensinamentos que me foram transmitidos foi a importância de realizar um atendimento completo, colocando todas perguntas necessárias sem exceção, tais como “O medicamento é para si?”, “Quais os sintomas que apresenta?”, “Toma outros medicamentos ou tem outro problema de saúde?”, “Sabe como tomar a medicação?”. Por conseguinte, tais práticas resultam num atendimento personalizado que demonstra preocupação e foco no utente, com vista a garantir o uso correto do medicamento e a obtenção dos efeitos desejados.

Consequentemente, graças aos pontos supracitados, com o decorrer do estágio fui adquirindo mais confiança e aptidão para lidar com diferentes cenários de atendimento.

### **3.3.2. Formações internas**

Ao longo do estágio tive oportunidade de assistir a diversas formações de marcas, permitindo que todos os farmacêuticos e colaboradores estejam atualizados sobre as novidades e tendências de mercado na área da saúde, bem como sobre os produtos e serviços oferecidos pela maioria das marcas.

A título de exemplo, presenciei formações de vários laboratórios como os da *Tilman* sobre produtos fitoterapêuticos, *Caudalie*, *Lierac*, *MartiDerm* e *Institut Esthederm* sobre produtos cosméticos, *Nestlé Health Science*, *Aboca* e *Tillman* sobre suplementos alimentares e *Théa* sobre produtos oftálmicos.

Saliento, assim, a importância deste tipo de formação que é essencial para um atendimento mais personalizado e com maior qualidade aos clientes.

## **3.4. Ameaças**

### **3.4.1. Concorrência**

Os locais de venda de Medicamento Não Sujeito a Receita Médica (MNSRM) e produtos de saúde e bem-estar constituem, em termos de concorrência e de promoção para a saúde, uma das principais ameaças às farmácias comunitárias e, consequentemente, à profissão farmacêutica.

Estas superfícies conseguem praticar preços mais baixos, devido às margens estabelecidas para cada MNSRM e Produtos Cosméticos e de Higiene Corporal (PCHC), sendo completamente impraticáveis nas farmácias. Além disso, a ausência de aconselhamento farmacêutico nestes locais acaba por levar a uma automedicação irresponsável. É fundamental que a população esteja ciente de que, embora os preços sejam mais acessíveis, as parafarmácias e estabelecimentos similares não possuem profissionais suficientemente qualificados para oferecer um atendimento seguro, responsável e adequado às necessidades individuais de cada pessoa.

Algumas farmácias adotam algumas estratégias para amenizar esta situação, passando por estipular margens para cada produto, muitas das vezes comparando com farmácias mais próximas, de forma a serem mais rentáveis e competitivas. Contudo, estas abordagens nem sempre são suficientes para compensar as perdas.

### **3.4.2. Medicamentos esgotados**

Ao longo do estágio deparei-me com o aumento das ruturas e escassez de medicamentos. Apesar de não ser uma realidade exclusiva de Portugal, existe a necessidade de analisar esta situação, adotando medidas que previnam as ruturas minimizando o seu impacto na população. Isto deve-se essencialmente ao aumento do custo, à dificuldade de acesso a algumas matérias-primas e a substâncias ativas, bem como à aquisição de material de embalagem primário e secundário.(5)

Tais situações verificaram-se, a título de exemplo, com os medicamentos Inderal<sup>®</sup> 10 mg- Propranolol, anti-hipertensor, Ozempic<sup>®</sup>- Semaglutido, anti-diabético, Ibuprofeno e Paracetamol.

Como estagiária e tendo desempenhando o papel de futura farmacêutica, era minha função esclarecer a situação, que por vezes não era bem compreendida por parte dos utentes. Contudo, nem sempre era possível substituir medicamentos por outros equivalentes, já que algumas falhas eram transversais a vários laboratórios. Assim, a farmácia não conseguia dar uma resposta imediata ao utente devido à necessidade de uma nova prescrição médica para a dispensa ou até à indispensabilidade de reavaliação do doente pelo médico. Como consequência deste cenário, ocorreram casos de interrupção de tratamento ou agudização da doença.

Assim, é necessário que sejam implementadas medidas que permitam às farmácias resolver o problema sem que o utente tenha que voltar ao médico para adquirir uma nova prescrição, garantindo sempre a equidade no acesso ao medicamento.

### **3.4.3. Relutância perante os Medicamentos Genéricos**

A relutância e o desconhecimento sobre Medicamentos Genéricos (MG) são ainda uma realidade para muitos utentes. Todos os Medicamentos, incluindo os MG, necessitam de cumprir padrões de qualidade e requisitos legais para obterem a sua aprovação.(6)

Não obstante, muitos utentes descredibilizam os MG, alegando não apresentarem tanta qualidade como os de marca e, por isso, não confiam na sua toma. A equipa esforça-se diariamente por explicar que os MG são equivalentes e tão eficazes quanto os de marca, tendo a mesma substância ativa, dosagem, mesma forma farmacêutica e indicações terapêuticas. São igualmente sujeitos a rigorosos sistemas de avaliação que visam garantir a qualidade e eficácia dos medicamentos disponíveis no mercado, independentemente de serem MG ou de referência. Além disso, proporcionam não só uma oportunidade de poupança para o utente e para a farmácia, como contribuem para a melhoria da sustentabilidade do Sistema Nacional de Saúde(6).

### **3.4.4. Utentes que pretendem adquirir MSRM sem prescrição**

Uma situação cada vez mais frequente em FC, são utentes que pretendem adquirir Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM) sem a apresentação de prescrição médica. Isto posiciona os farmacêuticos numa situação complicada, uma vez que tem de se clarificar aos utentes que a farmácia não pode ceder o medicamento desejado sem uma prescrição médica, mesmo justificando o sucedido e acrescentando que o acompanhamento médico é imprescindível para o uso correto do medicamento.

Lamentavelmente, a maioria dos utentes sai da farmácia insatisfeito procurando outras farmácias que não cumprem as restrições exigidas a este tipo de medicamentos, acabando por prejudicar a FA que cumpriu as normas legais, pondo igualmente em causa os princípios e regulamentações inerentes a todas as farmácias comunitárias de território nacional.

## **4. Casos Clínicos**

### **Caso Clínico I - Pele acneica:**

Um jovem com 15 anos dirige-se à farmácia acompanhado pela mãe pedindo aconselhamento e solicitando algo que controle e limpe a oleosidade diariamente. Queixa-se também de “pontos negros e brancos que costuma espremer”. Analisando as suas preocupações e manifestações cutâneas, concluí que se tratava de uma pele oleosa, com tendência acneica, apresentando acne comedogénica pela presença dos comedões observados.

Iniciei a minha abordagem ao utente enfatizando a importância da consistência da rotina, de modo a conseguir melhorar a sua condição de pele, sugerindo que inicie o tratamento de forma simples. Sugeri que devia começar pela etapa essencial que é a de limpeza de manhã e à noite, com um gel de limpeza purificante para diminuir a oleosidade nos folículos e facilitar a absorção dos produtos de tratamento. De seguida, aconselhei a utilização de um hidratante de textura ligeira formulado com ácido salicílico e niacinamida para prevenir a obstrução dos poros e formação de imperfeições. Por fim, expliquei que o uso de proteção solar diariamente é imprescindível para prevenir o aparecimento de manchas resultantes da exposição solar. Assim, recomendei um protetor solar com SPF 50+, de textura fluida, com efeito matificante e não comedogénico. Alertei para a importância de não manipular as lesões acneicas, uma vez que pode causar sobre-infeção e agravar a sua condição de pele.

### **Caso Clínico 2 - Sarna:**

Uma senhora desloca-se ao balcão da farmácia com várias prescrições médicas de medicamentos manipulados para diferentes utentes. Ao questionar a senhora, a mesma revela que é funcionária de uma instituição e recentemente ocorreu um surto de Escabiose no local onde trabalha, mais comumente conhecida por Sarna humana, provocada por um ácaro parasita, *Sarcoptes scabiei*. Cada prescrição médica continha a associação de creme de Permetrina com cápsulas de Ivermectina, todas com diferentes dosagens e adaptada a cada utente, uma vez que a dose de Ivermectina é dependente do peso corporal. Expliquei como tomar e aplicar cada medicamento. A posologia referente consiste na toma de 1 cápsula na primeira semana e aumentar para 2 cápsulas na segunda semana do tratamento. Alertei para o modo de aplicação do creme de Permetrina, que se faz do pescoço para baixo, nunca no rosto. Ao entregar todos os medicamentos manipulados solicitados, forneci instruções sobre alguns cuidados importantes a serem tomados, de forma a minimizar o contágio e a propagação da doença, tais como a necessidade de lavagem diária da roupa de cama e do corpo a 60°, o evitar coçar a pele, a aplicação de produtos hidratantes que ajudem a reduzir o prurido e a repor a barreira cutânea.

### **Caso Clínico 3 - Rinite Alérgica:**

Um utente do sexo masculino com 20 anos dirige-se à farmácia com queixas de congestão nasal, rinorreia, espirros e alguma comichão nos braços há 2 dias, solicitando algo que ajude a atenuar os sintomas. Questionei se tinha dificuldade em respirar ou tosse e também que medicamentos toma habitualmente. Após questionar sobre a frequência e intensidade dos sintomas, refere que não costuma ser habitual e que apenas esteve num

jardim a fazer um piquenique durante umas horas, ficando assim após o sucedido. Sugeri a toma de Loratadina 10 mg, um anti-histamínico de 2ª geração sem efeito sedativo, indicado para o tratamento sintomático da rinite alérgica, auxiliando igualmente no prurido ligeiro sentido. Recomendei a toma de 1 comprimido por dia, com ou sem alimentos, durante pelo menos 3 a 4 dias. Além disso, recomendei a utilização de uma solução de pulverização nasal de Oximetazolina 0,5 mg/ml, fazendo 2 pulverizações em cada narina de 12 em 12 horas, no máximo durante cinco dias. Quanto ao aconselhamento não farmacológico, deveria fazer lavagem nasal com soro fisiológico ou solução salina. Aconselhei que, caso os sintomas não melhorassem ao fim de 7 dias, deveria consultar um médico.

#### **Caso Clínico 4 - Deflúvio Telogénico:**

Uma utente do sexo feminino, com 30 anos, dirige-se à farmácia queixando-se de queda de cabelo difusa há cerca de dois meses, descrevendo que tem a sensação de que por vezes vai ficar sem cabelo. Comecei por perguntar se tem antecedentes familiares, história de anemia, se fez alguma dieta restritiva nos últimos tempos, se esteve sujeita a algum tipo de stress físico ou psicológico, toma de medicamentos, situação pós-parto ou se tinha outros sintomas associados. A utente afirmou que há três meses esteve sujeita a restrições alimentares e nutricionais devido a um processo de perda de peso. Expliquei que o mais provável era tratar-se de um Deflúvio Telogénico, uma queda de cabelo aguda, resultado do estado nutricional mais restrito que normalmente apenas se manifesta 1 a 2 meses após o fator desencadeante.

Assim, recomendei um suplemento alimentar constituído por Biotina, Cistina, Vitamina D entre outras vitaminas, minerais e aminoácidos, uma vez que estes auxiliam o combate ao stress oxidativo e ajudam a atenuar os distúrbios hormonais associados. Salientei a importância da duração do tratamento, que deve ser feita durante pelo menos 3 meses, de modo a notar alguns efeitos. Sugeri, adicionalmente, uma loção anti-queda com *Serenoa repens* e outros antioxidantes na sua constituição, com o intuito de auxiliar no crescimento do cabelo e de retardar a queda de cabelo aguda.

No entanto, alertei para que, se a situação progredisse, convinha consultar um médico dermatologista com o intuito de obter exames complementares a fim de chegar a um diagnóstico.

#### **Caso Clínico 5 - Infecção vaginal ou urinária:**

Uma jovem do sexo feminino, com aproximadamente 18 anos, deslocou-se à farmácia muito preocupada, dizendo que está com uma infeção urinária e pede um medicamento em creme para a referida infeção. Questionei que sintomas apresentava, se

sentia algum ardor e vermelhidão, prurido ao redor da vagina, corrimento fora do normal, inodoro e em abundância. Através das questões colocadas, percebi que se tratava de uma infecção vaginal e não de uma infecção urinária. Pela descrição feita do corrimento vaginal com aspecto esbranquiçado e sem odor inofensivo e dos sintomas apresentados, suspeitei de uma candidíase vaginal. Questionei a utente se apresentava febre, dores lombares ou abdominais inferiores, se estava a tomar contraceptivos orais combinados e se fez algum tratamento com antibiótico recentemente, pelo que a utente respondeu de forma negativa.

Quanto ao tratamento farmacológico, sugeri a utilização de Gino-Canesten<sup>®</sup>, um antifúngico tópico, com o princípio ativo Clotrimazol, disponível em creme para aliviar os sintomas a aplicar durante 6 dias consecutivos, de preferência ao deitar. Mencionei a importância de adjuvar o tratamento com algumas medidas não farmacológicas, tais como após a ida à casa de banho limpar a área com um movimento da frente para trás, para evitar contaminação de fungos ou bactérias do ânus para a vagina ou trato urinário, manter a área genital limpa, seca e utilizar água e sabão suave para a higiene diária e evitar roupas justas. Além disso, referi que apesar da candidíase não ser considerada uma doença sexualmente transmissível, o contacto sexual deve ser feito mediante a utilização de preservativo para evitar contrair ou disseminar a infeção.

Referi que a situação deveria ser reavaliada após 7-14 dias e, se não houver alívio de sintomas, deveria marcar uma consulta médica. Se ficasse resolvido, sugeri a utilização de formulações probióticas à base de *Lactobacillus acidophilus*, via oral ou vaginal, que parecem ajudar a prevenir a infeção. Por fim, esclareci as diferenças entre as duas infeções supracitadas, de modo que a utente ficasse mais esclarecida.

## **5. Conclusão/Considerações Finais**

A atuação do farmacêutico revela-se determinante na deteção precoce de diversas doenças, na promoção do uso responsável do medicamento e na promoção de estilos de vida saudáveis.

Ter estagiado numa unidade de saúde altamente valorizada pela comunidade, reforçou a minha admiração pela profissão farmacêutica, pela sua dedicação perante os utentes, pelo seu potencial no ato farmacêutico e pela sua distinção enquanto profissional de saúde pública. O contacto direto com pacientes e colegas profissionais da área da saúde, proporcionou-me uma visão realista e ampla das necessidades da população. Além disso, desenvolvi as minhas capacidades de comunicação, competências práticas e críticas, consolidei conhecimentos científicos e vivenciei a dinâmica do ambiente de trabalho em equipa.

Por fim, estou certa de que a FA foi o local ideal para a realização do meu estágio curricular, por todo o conhecimento e valores que me foram transmitidos. Fizeram-me perceber que, quando gostamos e nos orgulhamos da nossa profissão e do que representamos para a sociedade, todos os dias se tornam gratificantes.

## 6. Referências Bibliográficas

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **FARMÁCIA COMUNITÁRIA - ÁREAS PROFISSIONAIS** [Acedido a 12 de dezembro de 2022]. Disponível em: <https://www.ordemdosfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria>
2. Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho - Aprova as boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados em farmácia de oficina e hospitalar. Diário da República n.º 129/2004
3. INFARMED - **MEDICAMENTOS MANIPULADOS** [Acedido a 15 de dezembro de 2023]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/inspecao-medicamentos-manipulados>
4. MADDE COMUNICAÇÃO - **A revolução chegou às farmácias?** [Acedido a 20 de dezembro de 2022]. Disponível em: <https://www.madde.pt/index.php/blog/11-marketing-digital/140-a-revolucao-chegou-as-farmacias>
5. JORNAL MÉDICO - **Rutura de medicamentos aumenta na Europa** [Acedido a 12 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://www.jornalmedico.pt/atualidade/42925-rutura-de-medicamentos-aumenta-na-europa.html>
6. RENATA MINAS, Ordem Dos Farmacêuticos-Colégio De Especialidade De Assuntos Regulamentares - **Regulamentação Farmacêutica na garantia da qualidade, eficácia e segurança dos medicamentos genéricos** [Acedido a 10 de dezembro de 2022]. Disponível em: [https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/editor2/Colegios\\_de\\_Especialidade/Titulo\\_Especialidade/Especialidade\\_AR/Especialistas\\_Anteriores/2014/2014\\_Renata\\_Minas.pdf](https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/editor2/Colegios_de_Especialidade/Titulo_Especialidade/Especialidade_AR/Especialistas_Anteriores/2014/2014_Renata_Minas.pdf)

## **PARTE II**

### **Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica**

#### **Cantabria Labs Portugal**

Sob orientação da Dra. Ana Luísa Santos



## **Lista de Abreviaturas**

**AIM** - Autorização de Introdução no Mercado

**AR** - Assuntos Regulamentares

**CESP** - Common European Submission Portal

**IF** - Indústria Farmacêutica

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

**MICF** - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**RAP** - Revisão Anual de Preços

**RCM** - Resumo das Características do Medicamento

**SMUH-ALTER** - Sistema de Gestão de Medicamentos de Uso Humano

**SWOT** - *Strenghts, Weaknesses, Opportunities and Threats*

## **I. Introdução**

Com o decorrer do meu percurso académico descobri que, além do estágio curricular em Farmácia Comunitária, poderia complementar a minha formação com um estágio em Indústria Farmacêutica (IF), tendo a oportunidade de experienciar rotinas de trabalho distintas e adquirir competências nesta outra vertente fundamental da área farmacêutica.

O estágio curricular em IF foi realizado na Cantabria Labs Portugal em Lisboa, no período decorrido entre o dia 9 de janeiro e o dia 31 de março de 2023, sob orientação da Dra. Ana Luísa Santos. Durante este período tive a oportunidade de integrar o Departamento Técnico e de Formação na área de Assuntos Regulamentares (AR).

### **I.1. Cantabria Labs Portugal**

A Cantabria Labs, empresa farmacêutica multinacional, fundada em Espanha, está presente há mais de 25 anos na área da Dermatologia. Atualmente tem filiais em Espanha, Portugal, Itália, Marrocos, México e China, estando presente em mais de 85 países com produtos farmacêuticos, cosmecêuticos e produtos de nutrição médica. Uma marca de referência na Europa, tanto em Dermatologia como noutras especialidades médicas, é reconhecida pela sua inovação e apoio científico notórios. Desde a sua inauguração em 2009, a filial portuguesa dispõe de uma ampla gama de soluções terapêuticas nas áreas de dermatologia e ginecologia, atendendo às necessidades do mercado nacional.(1)

Regem-se pelo lema *Celebrate Life*, espelhando a sua identidade e valores como a inovação e proximidade que visam melhorar a saúde e qualidade de vida das pessoas.(1)

### **I.2. Departamento Técnico e de Formação**

O Departamento Técnico e de Formação é responsável pela aplicação e garantia da manutenção do sistema de gestão da qualidade dos produtos Cantabria Labs Portugal. Adicionalmente, está encarregue da formação inicial e contínua de todos os colaboradores da empresa e por todas as etapas e funções de Farmacovigilância e AR, assegurando que as boas práticas de distribuição de Medicamentos de Uso Humano e de Dispositivos Médicos sejam cumpridas.

A área de AR exige elevados padrões de segurança no domínio da saúde, nomeadamente através da sua atividade nos processos de desenvolvimento, registo e acesso ao mercado dos medicamentos. Além disso, é responsável pela informação, apoio aos profissionais de saúde, bem como na monitorização da utilização de medicamentos e dispositivos médicos.(2)

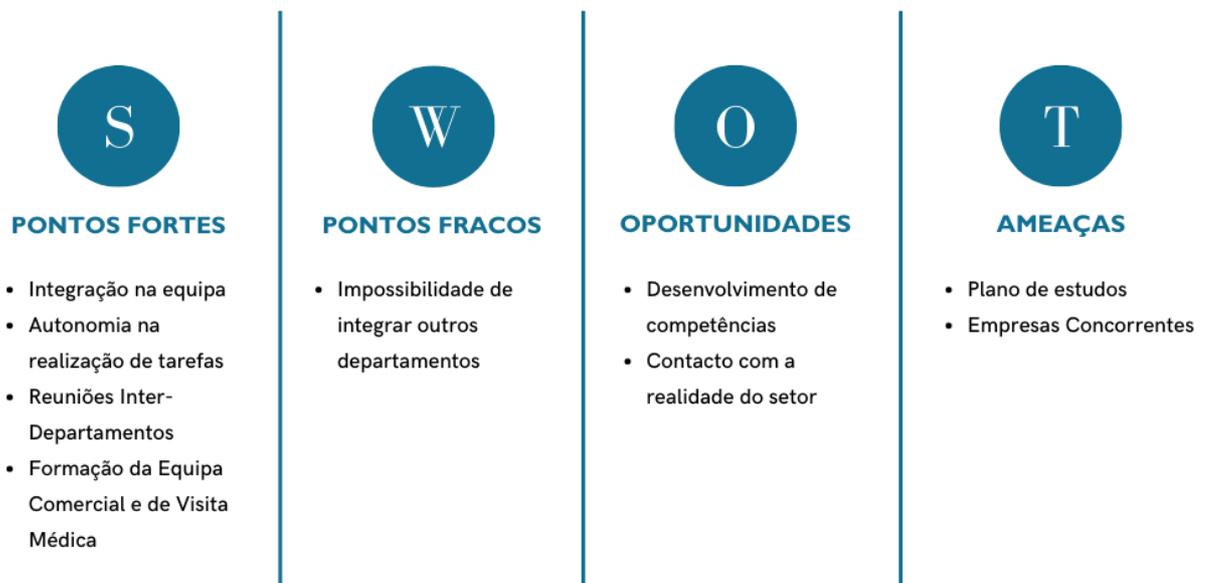
Neste âmbito, são realizados frequentemente processos de criação e alteração de medicamentos, mais especificamente alterações aos termos de Autorização de Introdução ao Mercado (AIM). Este procedimento é realizado através do SMUH-ALTER (Sistema de Gestão de Medicamentos de Uso Humano), uma plataforma nacional destinada à submissão de alterações. A título de exemplo, alterações no Resumo das Características do Medicamento (RCM) de um medicamento e pedidos de aprovação de preço. Para além da submissão nesta última plataforma, existe a alteração via CESP (Common European Submission Portal), um sistema que fornece um mecanismo simples e seguro para a troca de informações entre os *applicants* e as agências reguladoras, neste caso o INFARMED. O INFARMED é a entidade que regula e supervisiona o mercado dos Medicamentos de Uso Humano, Dispositivos Médicos e Produtos Cosméticos e de Higiene Corporal, de acordo com rigorosos padrões de proteção da saúde pública, assegurando a qualidade, eficácia e segurança no acesso aos mesmos, tanto a profissionais de saúde como aos cidadãos.

A Cantabria Labs Portugal - IFC Skincare Portugal -, como titular de AIM, tem de apresentar novos preços para os medicamentos não genéricos, através da Revisão Anual de Preços (RAP). São alvo desta monitorização “todos os medicamentos de uso humano sujeitos a receita médica e não sujeitos a receita médica, comparticipados e com preços máximos autorizados pelo INFARMED, I.P.”(3).

Como mencionado anteriormente, a Cantabria Labs Portugal é uma indústria farmacêutica especializada essencialmente em Produtos Cosméticos e de Higiene Corporal (PCHC), tendo demonstrado um crescimento exponencial nos últimos anos. De igual modo, a livre circulação de produtos cosméticos exige o cumprimento de legislação - Regulamento (CE) n.º 1223/2009, de 30 de novembro de 2009.

## **2. Análise SWOT**

De modo a analisar o meu período de estágio curricular na Cantabria Labs Portugal, desenvolvi uma análise SWOT que visa explicar os Pontos Fortes (S – *Strengths*), Pontos Fracos (W – *Weaknesses*), Oportunidades (O – *Opportunities*) e Ameaças (T – *Threats*) sentidas ao longo do estágio. Os pontos fortes e fracos pretendem refletir fatores internos à empresa que representaram vantagens e desvantagens para o sucesso do estágio. Por outro lado, as oportunidades e ameaças são consideradas a partir de uma perspetiva externa, com o objetivo de destacar os aspetos positivos e negativos que estão fora da esfera de influência direta da empresa.



**Figura I** - Resumo dos pontos abordados na análise SWOT.

## 2.1. Pontos Fortes

### 2.1.1. Integração na equipa

Ser parte integrante de uma equipa é um aspeto fundamental em qualquer ambiente de trabalho. No início do estágio foi-me feita uma breve apresentação da história, evolução e organização da empresa, bem como a apresentação de todos os membros constituintes de cada departamento. O facto de ter sido recebida pelos colegas com simpatia e completa disponibilidade, transmitiu-me uma sensação de tranquilidade e união da equipa. Isto traduziu-se numa perceção de trabalho em equipa, o que contribuiu para o meu desempenho ao longo do tempo e, conseqüentemente, para o sucesso do estágio.

### 2.1.2. Autonomia na realização de tarefas

No decorrer do estágio foi-me depositada confiança e responsabilidade em diversas tarefas, o que fez com que pudesse trabalhar de forma mais autónoma. Durante a realização das tarefas foi-me concedida total liberdade ao executá-las, permitindo-me usar a minha criatividade e explorar novas ideias em determinadas tarefas. A minha capacidade de organização e gestão de tempo foi aperfeiçoada, na medida em que pude trabalhar ao meu próprio ritmo, ainda assim nunca descurando do sentido de responsabilidade pelos resultados que estava a produzir. Desta forma, senti-me mais motivada, satisfeita e produtiva em todas as atividades que realizei.

A realização de um *Causality Assessment*, um documento destinado à avaliação de causalidade e à relação entre uma suspeita de evento adverso e um determinado medicamento ou produto cosmético, demonstrou-se bastante pertinente. Nesta prática de dermatologia, quando se trata de uma reação adversa cutânea, ainda se torna mais significativo, uma vez que esta pode ser induzida por muitas etiologias, produzindo manifestações cutâneas semelhantes.

Adicionalmente, foi-me concedida a oportunidade de fazer a gestão de reclamações provenientes de profissionais de saúde, farmácias, distribuidoras, inclusive originárias do apoio ao cliente da empresa. Este procedimento compreende a gestão externa e interna, o que inclui a identificação do produto, da pessoa de contacto, a descrição do motivo que levou à reclamação, bem como a sua classificação, ou seja, se se refere a uma reclamação de qualidade, segurança ou logística.

### **2.1.3. Reuniões interdepartamentais**

A oportunidade de ter participado e assistido a algumas reuniões entre departamentos, proporcionou-me uma melhor compreensão do funcionamento da empresa como um todo, além de me ter ajudado a entender as responsabilidades e funções de cada um. Permitiu-me ter uma visão mais ampla da empresa e de que forma as reuniões auxiliam na criação de novas ideias e soluções para os desafios que a mesma enfrenta.

Considero, assim, que a realização de reuniões interdepartamentais promove uma melhor comunicação entre as diferentes áreas, garantindo que todos os membros da equipa estão a trabalhar em direção a objetivos comuns e que as informações são partilhadas de maneira eficaz para o sucesso da empresa.

### **2.1.4. Formação da Equipa Comercial e de Visita Médica**

Participar na criação e acompanhamento da formação da equipa comercial e visita médica proporcionou-me inúmeras vantagens.

As formações a novos delegados de informação médica servem essencialmente para ter uma equipa comercial bem informada e especializada sobre os produtos, de modo a fornecerem informações com qualidade, precisão e relevância aos clientes. Consequentemente, resultará em maior satisfação dos clientes, aumento nas vendas, fidelidade à marca e melhoria da sua reputação no mercado.

A preparação minuciosa das apresentações, incluindo a origem e fisiopatologia da afeção cutânea em questão, descrição das características, benefícios de cada produto e a

elaboração de protocolos relativos a casos clínicos constituiu um enorme benefício e mais-valia.

## **2.2. Pontos Fracos**

### **2.2.1. Impossibilidade de integrar outros departamentos**

A Cantabria Labs é uma empresa que investe fortemente em *Marketing*. Isto deve-se ao facto de o setor farmacêutico ser altamente competitivo, com várias empresas a disputar a preferência dos profissionais de saúde e consumidores.

O *Marketing* é direcionado na promoção de novos produtos e soluções terapêuticas, destacando os seus benefícios e aumentando a consciencialização sobre condições médicas específicas. Além disso, a IF muitas vezes comercializa medicamentos que são vendidos apenas com prescrição médica, o que significa que a persuasão dos profissionais de saúde é um aspeto fundamental para o sucesso do produto. Ainda neste domínio, existe o departamento de *Medical Sales*, com delegados de informação médica que têm sido igualmente um dos pilares estratégicos de *Marketing* e vendas de grande parte das IF.

No entanto, só me foi dada oportunidade de participar no trabalho do Departamento Técnico e de Formação, o qual abrange mais funções da área profissional farmacêutica.

## **2.3. Oportunidades**

### **2.3.1. Desenvolvimento de competências**

Todos os conteúdos das tarefas realizadas, incluindo a pesquisa bibliográfica, o preenchimento de documentos e a comunicação, são em língua inglesa, permitindo-me ter um contacto mais alargado com o idioma, o que é especialmente útil na IF, onde a maioria da documentação é redigida em inglês.

A possibilidade de me terem confiado a apresentação de duas das patologias associadas às linhas dos produtos Cantabria Labs na formação a novos delegados de informação médica; tornou-se numa excelente oportunidade para desenvolver diversas competências. A preparação rigorosa dos temas abordados constituiu uma das competências desenvolvidas, bem como a capacidade de compreensão dos conceitos e um conhecimento aprofundado sobre os detalhes constituintes de cada produto. Após alguns dias de preparação, senti-me capaz de comunicar e transmitir as ideias-chave pretendidas de forma clara e eficaz.

Adicionalmente, foi-me atribuída a elaboração da descrição e alegações de produtos cosméticos e dispositivos médicos, o que se revelou um desafio devido à necessidade de

analisar rigorosamente as alegações e as palavras proibidas nos produtos cosméticos. É importante salientar que a IF está sujeita a regulamentações rigorosas em relação à publicidade e promoção dos seus produtos. O Regulamento (UE) n.º 655/2013, de 10 de julho de 2013, que determina critérios comuns para a justificação das alegações relativas a produtos cosméticos, foi uma das legislações consultadas para este propósito. As empresas devem, assim, cumprir requisitos específicos para garantir que as campanhas realizadas são precisas, sem serem ambíguas e irreais para com os consumidores e profissionais de saúde.

### **2.3.2. Contacto com a realidade do setor**

O estágio em IF demonstrou-se uma oportunidade valiosa, uma vez que pretendia familiarizar-me com a realidade deste setor e adquirir alguns conhecimentos e experiência prática. A IF é um dos setores mais importantes e complexos da economia global, e a experiência adquirida durante o estágio revelou-se bastante útil em diversas áreas da profissão farmacêutica, tais como distribuição, formação, *marketing*, vendas, entre outras.

A possibilidade de experienciar o contacto da IF com o INFARMED constituiu um dos benefícios adquiridos no estágio, nomeadamente o preenchimento e elaboração de ficheiros relativos à RAP de medicamentos. Como acima mencionado, a legislação relativa ao controlo dos preços dos medicamentos resulta na RAP, realizada no sentido de manter ou baixar os preços. A elaboração de preços dos medicamentos não genéricos resulta da comparação com os preços, nos estádios de produção ou importação em vigor nos países de referência. Os países de referência escolhidos para o ano de 2023 foram Espanha, França, Itália e Eslovénia (Portaria n.º35/2023, de 26 de janeiro). No caso de não haver um medicamento idêntico disponível, são consideradas especialidades farmacêuticas similares, contendo a mesma substância ativa, forma farmacêutica e dosagem.(3)

É essencial que as medidas adotadas sejam equilibradas e que haja uma monitorização contínua para assegurar que a acessibilidade dos medicamentos seja mantida para todos os que deles necessitam, sem aumentar os custos para as famílias e sem gerar um aumento excessivo da despesa pública.

Tive a oportunidade de assistir a reuniões de Farmacovigilância com a Owlpharma, Consulting, Lda., uma empresa de consultoria especializada no setor farmacêutico que acompanha todas as fases do ciclo de vida do medicamento. No decorrer das reuniões, é efetuada a discussão da revisão do sistema de Farmacovigilância e SOPs, do Manual da Qualidade da Cantabria Labs Portugal e da auditoria realizada, de modo a determinar a conformidade da empresa com a legislação da União Europeia e com a legislação e *guidelines* aplicáveis em Farmacovigilância.

Em última análise, permitiu-me vivenciar a rotina diária de um farmacêutico em todos os departamentos que integra na IF, desde a regulamentação, distribuição e comercialização. Por último, compreender o funcionamento do mercado farmacêutico, identificar as principais tendências e desafios deste setor revelou-se essencial.

## **2.4. Ameaças**

### **2.4.1. Plano de estudos**

No plano curricular do MICF (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas), os alunos têm pouco contacto e experiência com a IF. Ao longo dos 5 anos, apenas temos uma unidade curricular dedicada a Assuntos Regulamentares do Medicamento e outra a Farmacovigilância. Nomeadamente em relação a esta última, temos consideravelmente pouco conhecimento da sua realidade dentro da IF.

O principal objetivo da Farmacovigilância é aumentar e melhorar a segurança dos medicamentos, em defesa do utente e da saúde pública através da identificação, avaliação e prevenção de reações adversas a medicamentos (4). Relativamente ao profissional de AR, este deve possuir um amplo conhecimento da legislação e requisitos em vigor, a fim de fornecer suporte às estratégias de desenvolvimento e registo de medicamentos, visando gerar todas as informações necessárias para comprovar a qualidade, segurança e eficácia de cada medicamento(2).

Considero um ponto negativo, uma vez que esta é uma área bastante relevante no mundo farmacêutico, desconhecendo a maneira como realmente funciona, sendo importante a oportunidade de ter, pelo menos, uma perceção do funcionamento e das exigências da IF neste âmbito. Assim, e apesar de não serem as saídas profissionais mais convencionais para o farmacêutico, são domínios em que este acrescenta imenso valor.

### **2.4.2. Empresas concorrentes**

A IF e a Indústria Cosmética são altamente competitivas, com várias empresas a concorrer por uma fatia do mercado global de medicamentos, tratamentos de saúde e a disputar a preferência dos consumidores em todo o mundo, pelo que é necessário estar sucessivamente atento às novas tendências de mercado e à concorrência. As empresas competem a vários níveis, incluindo inovação em formulações e embalagens, desenvolvimento de novos produtos, publicidade e marketing, além de preços e acesso ao mercado.

De salientar que a Indústria Cosmética está em constante evolução, de modo a atender às necessidades dos consumidores cada vez mais exigentes. Assim, as empresas

precisam de ser ágeis e manterem-se competitivas para acompanhar as tendências. Isto inclui a exploração de novos canais de venda, como a venda online e venda direta, bem como o desenvolvimento de produtos que atendam às necessidades específicas dos consumidores, como produtos de beleza e cuidados com a pele vegan e sustentáveis. Ainda que a Cantabria Labs se destaque de forma considerável, constatei que existem diversas empresas que se mostram fortes concorrentes, sendo necessário estar em constante atualização.

### **3. Considerações finais**

Devido à sua ampla formação e multidisciplinariedade, o farmacêutico tem a versatilidade de explorar diversas áreas dentro da IF tendo, do meu ponto de vista, a oportunidade de construir uma carreira mais atrativa e gratificante do que nas saídas convencionais da profissão farmacêutica.

Estou certa de que esta oportunidade que vivenciei me fez sair da zona de conforto, tornando-se imprescindível para o meu futuro profissional. Permitiu-me ter uma maior visão do mercado farmacêutico, incluindo as tendências de mercado e concorrência. Desta forma, permitiu-me identificar lacunas no mercado que não estão a ser colmatadas pelas empresas e também possíveis estratégias a desenvolver para melhorar ou otimizar os produtos.

Por conseguinte, o facto de ter sido incluída no trabalho do Departamento Técnico e de Formação, permitiu-me consolidar alguns conhecimentos anteriormente adquiridos e aperceber-me indubitavelmente do acompanhamento de toda a legislação aplicável que esta vertente exige, permitindo que tenhamos disponível no mercado um produto que cumpra todas as exigências e requisitos inerentes à IF. Deste modo, foi uma excelente oportunidade para melhorar conceitos teóricos, desenvolver competências práticas e aprofundar conhecimentos sobre as diferentes áreas constituintes da profissão farmacêutica neste mercado tão importante para a saúde pública.

Resta-me agradecer a toda a equipa da Cantabria Labs Portugal, em especial à Dra. Ana Luísa Santos, por esta experiência e por todo o apoio sentido ao longo do estágio.

#### 4. Referências Bibliográficas

1. CANTABRIA LABS PORTUGAL - **QUEM SOMOS** [Acedido a 12 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://www.cantabrialabs.pt/especialistas-em-produtos-dermatologicos>
2. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **ASSUNTOS REGULAMENTARES - ÁREAS PROFISSIONAIS** [Acedido a 15 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://www.ordemdosfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/assuntos-regulamentares>
3. INFARMED - **CIRCULAR INFORMATIVA REVISÃO ANUAL DE PREÇOS (RAP) - 2023** [Acedido a 1 de março de 2023]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/documents/15786/8073749/Revisão+Anual+de+Preços+2023/4f1be808-f626-d834-cf27-341d0aaf8bbf>
4. INFARMED - **FARMACOVIGILÂNCIA** [Acedido a 16 de fevereiro de 2023]. Disponível em: [https://www.infarmed.pt/web/infarmed/perguntas-frequentes-area-transversal/medicamentos\\_uso\\_humano/farmacovigilancia](https://www.infarmed.pt/web/infarmed/perguntas-frequentes-area-transversal/medicamentos_uso_humano/farmacovigilancia)

# **PARTE III**

## **Monografia**

### **“O Nrf2 como alvo terapêutico em dermatologia”**

Sob orientação da Professora Doutora Maria Manuel Cruz Silva

## **Resumo**

A via de sinalização Nrf2 é crucial na proteção contra o *stress* oxidativo e inflamação cutânea através da regulação da expressão de genes antioxidantes e anti-inflamatórios. A modulação do Nrf2 na pele pode ser uma potencial estratégia para proteger e gerir certas condições e perturbações dermatológicas desencadeadas ou exacerbadas por fatores internos e externos relacionados com o *stress* oxidativo. Destacam-se evidências atuais que demonstram a ativação do Nrf2 como um alvo promissor e adjuvante no tratamento de doenças dermatológicas, como a psoríase, dermatite atópica, fotoenvelhecimento cutâneo, entre outras. A par disso, existem compostos naturais e sintéticos que modulam a via Nrf2 que podem representar estratégias inovadoras para a saúde da pele. Ainda que o desenvolvimento de moduladores seguros e inovadores para cuidados de pele apresente certos desafios, esta abordagem permite explorar novas perspetivas no desenvolvimento de terapêuticas mais direcionadas e personalizadas para determinadas condições dermatológicas.

## **Palavras-chave**

Nrf2, pele, dermatologia, *stress* oxidativo, antioxidante, compostos naturais.

## **Abstract**

The Nrf2 signaling pathway is crucial in protecting against oxidative stress and cutaneous inflammation by regulating the expression of antioxidant and anti-inflammatory genes. Modulation of Nrf2 in skin may be a potential strategy to protect and manage certain dermatological conditions and disorders triggered or exacerbated by internal and external factors related to oxidative stress. Current evidence highlights and demonstrates the activation of Nrf2 as a promising target as an adjuvant in the treatment of dermatological diseases, such as psoriasis, atopic dermatitis, skin photoaging, among others. In addition, there are natural and synthetic compounds that modulate the Nrf2 pathway and may represent innovative strategies for skin health. Although the development of safe and innovative modulators for skin care presents certain challenges, this approach allows to explore new perspectives in the development of more targeted and personalized therapies for certain dermatological conditions.

## **Keywords**

Nrf2, skin, dermatology, oxidative stress, antioxidant, natural compounds.

## **Lista de Abreviaturas**

**AAL-** Ácido  $\alpha$ -lipóico

**AHR-** Aryl hydrocarbon receptor

**AP-I-** Proteína ativadora I

**ARE-** Elemento de Resposta Antioxidante

**CAT-** Catalase

**COX-2-** Cicloxigenase-2

**DA-** Dermatite Atópica

**DNA-** Ácido Desoxirribonucleico

**FLG-** Filagrina

**GSH-** Glutationa

**HO-I-** Heme oxigenase-I

**IVL-** Involucrina

**KEAP-I-** Kelch-like ECH-associated protein-I

**LOR-** Loricrina

**MAPK-** Mitogen-activating protein kinase

**MMPs-** Metaloproteinases

**NAC-** N-acetilcisteína

**NF-KB-** Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

**NMF-** Natural Moisturizing Factor

**NRF2-** Nuclear factor erythroid 2-related factor 2

**PT-** Pterostilbeno

**ROS-** Reactive Oxygen Species

**SFN-** Sulforafano

**SOD-** Superóxido dismutase

**TGF- $\beta$ -** Fator de crescimento transformante  $\beta$

**UV-** Ultravioleta

## Introdução

Nos últimos anos, têm ocorrido avanços significativos nos mecanismos moleculares envolvidos em diversas doenças dermatológicas e no desenvolvimento de estratégias terapêuticas inovadoras. Entre as novas abordagens terapêuticas emergentes, destaca-se o fator de transcrição Nrf2 que tem sido alvo de investigações promissoras na área de dermatologia.

A pele, sendo o órgão mais externo, é altamente suscetível aos efeitos do exossoma. Posicionada como uma barreira protetora entre os órgãos internos do corpo e o ambiente externo, tem de adaptar-se a vários fatores nocivos, como a radiação solar, os poluentes e lesões mecânicas. Estes fatores podem levar a efeitos prejudiciais na pele como o envelhecimento cutâneo precoce, problemas de pigmentação, atopia, psoríase, entre outros devido a processos como a oxidação, a citotoxicidade e a inflamação. Deste modo, a pele requer uma capacidade adaptativa às tensões impostas pelo exossoma. É neste contexto que as vias controladas pelo Nrf2 têm elevada importância.

O Nrf2 é uma proteína que desempenha um papel central na resposta antioxidante do organismo, regulando a expressão de genes envolvidos na defesa contra o *stress* oxidativo e a inflamação. A ativação do Nrf2 resulta na transcrição de variadas enzimas antioxidantes, estimulando a produção de enzimas de fase II do metabolismo de xenobióticos, as quais são fundamentais na neutralização de espécies reativas de oxigênio e produtos tóxicos.

Existem diferentes mecanismos pelos quais os indutores Nrf2 podem atuar. Alguns mecanismos dependem da Keap1, uma proteína que interage com o Nrf2. Estes indutores podem modificar aminoácidos específicos em Keap1, ou perturbar o complexo Keap1-Nrf2 através da utilização de eletrófilos ou pró-oxidantes.

No contexto da dermatologia, o Nrf2 tem-se mostrado um alvo terapêutico promissor, especialmente em doenças relacionadas com o *stress* oxidativo e inflamação crónica, como a dermatite atópica, psoríase e envelhecimento cutâneo. Além disso, o Nrf2 tem sido explorado em produtos dermocosméticos, evidenciando o seu potencial na promoção da saúde e beleza da pele.

A aplicação do Nrf2 em dermocosmética abrange diversas áreas, como a fotoproteção, o antienvelhecimento, a inflamação, a função barreira e os folículos capilares. Investigações recentes têm demonstrado que compostos naturais, capazes de modular a atividade do Nrf2, podem ser utilizados para melhorar a saúde e o aspeto da pele, providenciando uma alternativa segura e eficaz aos produtos tradicionais.

Nesta revisão bibliográfica, pretende-se explorar as aplicações do Nrf2 em dermatologia, nomeadamente os mecanismos de ativação do Nrf2, os seus efeitos benéficos

na pele e potenciais estratégias terapêuticas que visam modular esta via. Além disso, abordar-se-á a utilização de fitoquímicos, destacando os seus benefícios e perspectivas futuras.

## **I. A Pele e a dermatologia**

Inicialmente a pele era descrita como um mero revestimento protetor dos órgãos internos. Ao longo dos anos, tornou-se evidente que a pele é mais do que uma simples barreira mecânica, sendo um órgão surpreendentemente complexo que regula não só interações celulares e moleculares essenciais a diversos processos, como assume um papel preponderante na comunicação e autoestima do ser humano(1).

### **I.1. Estrutura da pele**

A pele representa o maior órgão do corpo humano, funcionando como uma barreira entre o organismo e o ambiente externo, pelo que a sua presença como barreira física é vital para a manutenção da homeostase do organismo(2).

O estrato córneo da pele é considerado a primeira linha de defesa contra os microrganismos presentes no ambiente externo. No entanto, a pele é também considerada um órgão sensorial altamente sofisticado, tendo ainda um papel importante na regulação endócrina, particularmente na síntese de vitamina D, que é “estimulada” para exposição solar(1).

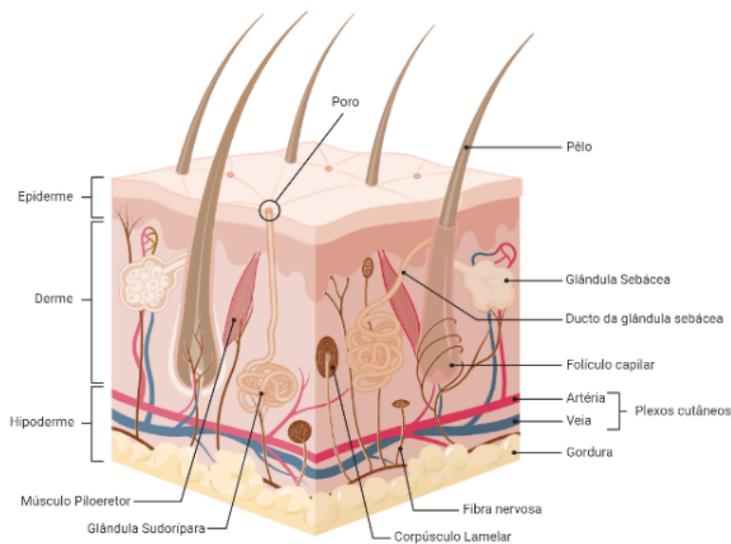
A pele é, pois, um órgão dinâmico e multifuncional com a capacidade de proteger o corpo humano de perdas de água e de outras substâncias contidas no organismo, impactos mecânicos, variações de temperatura, radiação solar, bem como contra a entrada de substâncias e microrganismos estranhos ao nosso organismo como alergénios e produtos químicos tóxicos. Não obstante, se o fornecimento vascular à pele for insuficiente, pode ocorrer quebra da integridade da pele e, conseqüentemente, um aumento da suscetibilidade a infeções(3).

A microbiota cutânea é controlada e protegida da infeção por bactérias, fungos e vírus graças a uma série de fatores, incluindo os peptídeos antimicrobianos, os lípidos, o pH ácido do estrato córneo e a contínua descamação diária da pele(4). Assim, a pele mantém a sua barreira protetora através da produção de novas células epiteliais sob a superfície à medida que as células queratinizadas da superfície epitelial descamam.

Como os restantes órgãos, o desenvolvimento da pele, ocorre pela evolução gradual de células pluripotentes para células com funções especializadas e progressivamente mais diferenciadas(2).

Devido às suas funções tão variadas, a pele é constituída por diferentes células que se organizam em duas camadas principais: a epiderme, uma camada mais superficial que inclui o estrato córneo, a estrutura protetora primária e a derme, uma camada fibrosa que sustenta e reforça a epiderme. Por fim, apesar de não ser consensual entre a comunidade científica a inclusão da hipoderme na estrutura da pele, esta é constituída por um tecido subcutâneo de gordura localizada sob a derme que, para além de nutrir as restantes camadas, tem a capacidade de amortecer e isolar o corpo(5).

O sistema tegumentar é constituído pela pele e anexos cutâneos – pelos, glândulas e unhas. Desta forma, a pele contém estruturas anexas e unidades foliculopilossebáceas, tais como as glândulas écrinas, as glândulas sudoríparas e as glândulas sebáceas.



**Figura I** - Representação da estrutura da pele.

A epiderme é a camada mais externa e superficial da pele, revestindo a superfície corporal. É uma camada celular bastante dinâmica, que se encontra em maturação contínua pela descamação cutânea a cada 15-30 dias, dependendo da localização corporal e da idade. Este ciclo contribui para a manutenção de uma epiderme íntegra e resistente à penetração de alergénios e agentes irritantes nas camadas profundas da pele e, juntamente com os péptidos antimicrobianos, funcionam como uma barreira à penetração de micro-organismos patogénicos(4).

Os queratinócitos são as células predominantes nesta camada, capazes de produzir proteínas como a queratina e involucrina (IVL), loricrina (LOR) e filagrina (FLG), que ao degradarem-se formam o Fator Humectante Natural (NMF, *Natural Moisturizing Factor*). Um dos principais componentes NMF na epiderme é a FLG e uma mistura complexa de

substâncias solúveis em água, como os aminoácidos. No estrato córneo, os lípidos encontram-se misturados com secreções sebáceas oleosas e aquosas provenientes do suor, mas também do FHN composto por ácidos policarboxílicos, arginina, serina, glicina, ureia, entre outros. São ainda responsáveis pela produção e excreção de alguns lípidos como as ceramidas, triglicerídeos e colesterol que envolvem estas células, protegendo-as de danos como a perda excessiva de água ou a entrada de substâncias estranhas provenientes do exterior.

Além dos queratinócitos e corneócitos que conferem proteção e estrutura, a epiderme contém ainda células nervosas – células de Merckel – que percebem o toque, a temperatura e a dor, mas também células do sistema imunitário especializadas na apresentação antigénica – células de Langerhans - que identificam e combatem microorganismos patogénicos e substâncias estranhas, tornando-se fulcrais na defesa imunitária cutânea(4).

Os melanócitos que se encontram na proximidade do estrato basal, são células especializadas na produção de melanina, o pigmento da pele, e que, através dos seus prolongamentos dendríticos o transferem aos queratinócitos(4). A distribuição dos grânulos de melanina e a sua capacidade de absorver a luz UV, funciona como um mecanismo de proteção do DNA celular contra a radiação solar potencialmente nociva para a pele.

A epiderme tem uma variedade de células que revelam uma atividade contínua, cujo equilíbrio precisa de ser mantido para garantir a manutenção da saúde e beleza da pele. De notar que é nesta camada da pele que a maioria dos produtos cosméticos atuam, especialmente as fórmulas convencionais.

A derme encontra-se sob a epiderme, sendo responsável por fornecer a principal substância estrutural da pele - o colagénio. Além disso, forma uma interface para a vascularização e sistema nervoso da pele, interagindo intimamente com a epiderme(2).

Os fibroblastos são as células com maior importância na derme, não só pela síntese e degradação de fibras de colagénio e elastina, mas também pela matriz extracelular ou “substância fundamental”. Esta última corresponde ao espaço entre as fibras e células dérmicas, constituída por glucosaminoglicanos, entre os quais se destaca o Ácido Hialurónico, responsável pela manutenção da homeostase hídrica, conferindo volume e amortecimento à pele.

A derme é fundamentalmente constituída por fibras, envolvendo ainda vasos sanguíneos e linfáticos, elementos nervosos, folículos pilosos, glândulas sebáceas, canais excretórios das glândulas sudoríparas e órgãos sensoriais(2). Assim que ocorre uma lesão ou perfuração na pele, as moléculas danificadas da derme desencadeiam uma resposta

inflamatória que estimula o processo de cicatrização. Desta forma, as moléculas presentes na matriz dérmica desempenham um papel importante tanto na resposta imunológica como na regulação celular.

A hipoderme localizada sob a derme, é um tecido adiposo subcutâneo que desempenha um papel fundamental na manutenção do equilíbrio energético pela sua reserva lipídica e temperatura corporal, protegendo o organismo através do amortecimento dos órgãos internos contra possíveis impactos.

Os anexos cutâneos são estruturas especializadas que incluem os pelos – unidade pilossebácea, as unhas e as glândulas cutâneas – glândulas sebáceas e sudoríparas. As secreções provenientes das glândulas sebáceas e sudoríparas, constituídas por ácidos gordos, favorecem a inibição do crescimento bacteriano. Apresentam igualmente um papel relevante ao desempenhar funções na defesa do organismo, regulação da temperatura corporal e na excreção de metabolitos.

## **1.2. Influência do expossoma na pele**

A pele é possivelmente o órgão mais suscetível ao impacto do expossoma, resultando em danos sistémicos, tópicos e nervosos. A capacidade da pele se adaptar a estes danos causados pelo expossoma é essencial para se proteger de certas condições como o envelhecimento cutâneo, pigmentações, atopia, psoríase e cancro de pele(6).

O termo “Skin Expossoma” pode ser definido como o conjunto de fatores internos e externos que interagem entre si, aos quais a pele está exposta ao longo do tempo(7). Destacam-se os fatores comportamentais – álcool, fumo de tabaco, *stress* psicológico, privação do sono, medicação e atividade física; fatores hormonais – desregulação hormonal na adolescência e menopausa, devido à oscilação hormonal; e por fim, fatores ambientais – poluição, temperatura, humidade e radiação solar, identificados como fortes potenciadores do envelhecimento cutâneo. Consequentemente, podem gerar ou agravar condições de pele mais complexas como dermatite Atópica (DA), acne, psoríase, rosácea e cancro de pele(8).

A radiação solar – UVA, UVB, Infravermelha (IV) e luz Azul – e a poluição – contaminantes químicos e micropartículas e fumo de tabaco são já reconhecidos como fortes desencadeadores de processos moleculares que afetam e degradam a estrutura da pele, resultando numa pele visivelmente envelhecida(9). Isto deve-se maioritariamente ao facto de a radiação solar gerar *stress* oxidativo com a produção de espécies reativas de oxigénio (ROS), aumento da proteína AP-1 e das metaloproteinases (MMPs), ocorrendo uma quebra ao nível da produção de colagénio. Assim, havendo perda de colagénio, a

proteína estrutural mais abundante na derme, resultará em perda de firmeza, contribuindo para o envelhecimento cutâneo.

Assim, é recomendável reduzir e controlar a exposição aos fatores que agravam certas condições de pele. Além disso, é possível minimizar os seus efeitos através de alterações no estilo de vida e de escolhas conscientes e direcionadas na utilização de produtos cosméticos. Posto isto, a pesquisa e investigação mais aprofundada do expossoma pode ter um papel significativo na compreensão da etiologia de certas doenças de pele e facilitar o desenvolvimento de estratégias preventivas ajustadas aos pacientes que sofrem destas condições.

## **2. O papel do Nrf2 nas patologias cutâneas**

O Nrf2 – fator 2 relacionado ao fator nuclear eritróide 2 – é uma proteína que atua como fator de transcrição, agindo de modo a minimizar os efeitos dos danos oxidativos. Tem a capacidade de se ligar ao DNA para regular a expressão de genes envolvidos na resposta antioxidante e detoxificação celular.

O papel importante do Nrf2 na diferenciação epidérmica, bem como a sua contribuição na manutenção da função barreira da pele tem sido alvo de estudo. A sua ativação auxilia na proteção da pele contra o *stress* oxidativo e inflamação induzidos pelo expossoma, constituindo uma estratégia de proteção e cuidado cutâneo em condições iniciadas ou agravadas pelo mesmo. Desta forma, a modulação do Nrf2 contribui para a saúde e homeostasia da pele, prevenindo o envelhecimento cutâneo e a perda da função barreira da pele, além de reduzir o risco de cancro de pele e de outros danos induzidos pela melanogénese.

O cromossoma 2q31.2 contém o gene Nrf2 humano e, de acordo com a base de dados de single nucleotide polymorphism (SNP), o locus Nrf2 contém vários SNP(10). Isto pode indicar que certos polimorfismos estão associados a um elevado risco de doenças associadas ao *stress* oxidativo.

### **2.1. Ativação celular via Nrf2**

O sistema Keap1-Nrf2 é reconhecido como um mecanismo de defesa celular relevante que regula a expressão de genes envolvidos na resposta antioxidante e detoxificação celular. Trata-se de um sistema que consiste em dois elementos: Keap1, que age como um detetor de substâncias eletrofílicas e o Nrf2 como um ativador de genes citoprotetores(11).

O Keap1, uma proteína citoplasmática rica em resíduos de cisteína associada ao Elemento de Resposta Antioxidante (ARE), atua como sensor para danos oxidativos, tendo a capacidade de se ligar ao Nrf2 e regular a sua atividade.

Em condições de homeostase, o Keap1 mantém o Nrf2 inativo através da ubiquitinação pelo complexo ubiquitina E3 ligase Keap1-CULIN3 (CUL3) e é sujeito a uma subsequente degradação mediada pelo proteossoma no citoplasma(11). Contudo, em resposta ao *stress* oxidativo quando as células são expostas a eletrófilos ou a espécies reativas de oxigênio (ROS), os resíduos de cisteína reativos presentes na proteína Keap1 são oxidados. Isto vai alterar a conformação da ubiquitina E3 ligase Keap-CUL3, impedindo a sua capacidade de ubiquitinar o Nrf2. Como consequência, o Nrf2 acumula-se no citoplasma e ocorre a sua translocação para o núcleo, dimeriza-se com uma das pequenas proteínas do fibrossarcoma músculo-aponeurótico (sMaf) e liga-se ao ARE na região promotora dos genes alvo, ativando a transcrição de genes envolvidos na resposta antioxidante e destoxificação celular(11). A proteína Keap1 associada à actina posiciona-se na região perinuclear do citoplasma, regulando a passagem do Nrf2 para o núcleo celular.

Estes genes citoprotetores estão envolvidos na síntese de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD), glutatião (GSH), catalase, heme oxigenase-I (HO-I) e outros genes envolvidos na metabolização de xenobióticos, desintoxicação de fase II (GSH S-transferase e NADPH quinona desidrogenase (NQO1)) e excreção de fármacos.

Assim, o sistema Keap1-Nrf2 constitui um mecanismo de proteção celular que permite que as células se adaptem a condições de *stress*, nomeadamente ao *stress* oxidativo, ativando a resposta oxidante e destoxificação celular.

Uma vasta investigação sobre o sistema Keap1-Nrf2 resultou em evidências que demonstram a importância da atividade do Nrf2 e dos seus mecanismos reguladores na manutenção da homeostase. Com base nisso, é importante notar que a desregulação do sistema Keap1-Nrf2 está envolvida na origem de várias doenças. Nesse sentido, existe concordância na comunidade científica de que este sistema constitui um alvo promissor para o desenvolvimento de fármacos.

### **2.1.1. Mecanismos celulares- via dependente e independente de Keap-1**

Em condições basais, o Keap1 funciona como um E3 ubiquitin ligase, que direciona constantemente o Nrf2 para a ubiquitinação e degradação proteasomal. Sob *stress* oxidativo, os agentes oxidantes ou eletrófilos alteram os resíduos de cisteína presentes no Keap1, o que resulta na libertação do fator de transcrição Nrf2 do complexo Keap1-Cul3-Rbx1 E3 ubiquitin ligase. Além disso, os agentes oxidantes ou eletrófilos podem ativar determinadas

proteínas cinase para fosforilar o Nrf2, o que resulta também na sua libertação do complexo Keap1(11).

Consequentemente, ambas as estratégias aumentam a translocação do Nrf2 para o núcleo, onde forma heterodímeros com proteínas nucleares como os sMaf. Este complexo liga-se à região de ARE e, por fim, ativa a expressão dos genes alvo. Deste modo, os mecanismos de regulação do sistema Keap1-Nrf2 podem ser divididos em dois esquemas distintos: os dependentes de Keap1 e os independentes de Keap1.

## **2.2. Benefícios da ativação do Nrf2 na pele**

O Nrf2 é uma proteína celular que desempenha um papel importante na regulação de processos celulares, incluindo a resposta antioxidante. A ativação do Nrf2 na pele tem sido associada a uma série de benefícios para a saúde cutânea. Um dos principais benefícios da ativação do Nrf2 é o reforço da barreira cutânea, graças à estimulação da produção de proteínas estruturais na epiderme que ajudam a manter a integridade da barreira cutânea, protegendo a pele contra agressões dos agentes externos.

Além disso, como já referido anteriormente, a ativação do Nrf2 na pele tem um efeito antioxidante, reduzindo a produção de radicais livres que podem danificar as células da pele e contribuir para o envelhecimento precoce da mesma. O Nrf2 é ainda capaz de induzir a detoxificação das células, o que ajuda a eliminar toxinas e poluentes ambientais que possam prejudicar a saúde da pele.

A redução da pigmentação e a citoproteção dos melanócitos é algo resultante da ativação do Nrf2, revelando-se útil no tratamento de manchas causadas pela exposição solar e de hiperpigmentação pós-inflamatória.

Outro benefício bastante relevante da ativação do Nrf2 na pele é a redução da inflamação em feridas. Ajuda a acelerar o processo de cicatrização e prevenir o desenvolvimento de tecido conjuntivo, processo designado por fibrose, através da inibição da ativação de células que produzem esse mesmo tecido.

Por conseguinte, a via Nrf2 desempenha um papel crucial na regulação dos danos inflamatórios nos tecidos, através da transcrição e consequente ativação de genes antioxidantes e citoprotetores, além de impedir a ativação do mediador inflamatório NF-κB. Já a via de sinalização NF-κB, é responsável por regular o inflamassoma, contribuindo para o desencadeamento e avanço da resposta inflamatória nos tecidos.

### **2.2.1. Efeito antioxidante e anti-inflamatório da ativação do Nrf2**

Ainda que as respostas da pele ao *stress* oxidativo sejam efetivas contra fontes exógenas, a exposição crónica, o envelhecimento ou patologias concomitantes podem reduzir a sua ativação e aumentar o dano oxidativo, acelerando o processo de envelhecimento e risco de cancro de pele.

O organismo produz constantemente radicais livres através das atividades metabólicas realizadas pelas células. Quando gerados de forma moderada, desempenham o papel de mensageiros na sinalização celular e são cruciais para uma série de processos vitais, incluindo a divisão celular, imunidade, inflamação, processo de autofagia e respostas ao *stress*. No caso de haver uma produção excessiva destes radicais altamente reativos, ocorrem danos celulares, desequilíbrio nos processos redox, *stress* oxidativo exacerbado e ainda lesões e disfunção de órgãos.

Estudos experimentais têm comprovado que o bloqueio ou a ausência de Nrf2 está constantemente relacionada com um agravamento da inflamação em diversos modelos animais. O efeito anti-inflamatório do Nrf2 é resultado de uma interação complexa entre o Nrf2 e as várias vias inflamatórias sensíveis às reações redox, como o NF-kB e os inflamassomas.

Existem dois efeitos anti-inflamatórios mediados pelo Nrf2: indução de genes de resposta antioxidante e, por outro lado, inibição da indução da expressão transcricional de citocinas pró-inflamatórias.

O NF-kB – fator nuclear kappa B - um fator de transcrição nuclear, tem a capacidade de controlar a expressão de diversos genes que desempenham funções cruciais em processos fisiológicos fundamentais, como a inflamação e imunidade.

Diversas investigações têm demonstrado que o Nrf2 e o NF-kB interagem entre si de modo a coordenar a regulação do equilíbrio redox no interior das células. A ativação do NF-kB é desencadeada por desequilíbrios na homeostase redox celular, resultado do *stress* oxidativo. Desta forma, existe uma regulação antagónica entre o Nrf2 e o NF-kB. Quando o Nrf2 é mais ativo, ocorre uma diminuição da inflamação e do *stress* oxidativo graças à ativação de enzimas antioxidantes. Por outro lado, quando o NF-kB predomina, ocorre a produção de mediadores pró-inflamatórios e o *stress* oxidativo é mantido. Nesse sentido, o Nrf2 desempenha um papel importante ao reduzir a carga de *stress* oxidativo celular, o que impede a ativação do NF-kB.

O Nrf2 antagoniza a indução de genes pró-inflamatórios, incluindo a IL-6 e a IL-1b exercendo, desta forma, algumas das suas funções anti-inflamatórias. No decorrer do *stress* oxidativo o NF-kB é fosforilado, culminando na sua libertação e translocação para o núcleo

com a indução da transcrição de mediadores pró-inflamatórios como a IL-6, TNF- $\alpha$  e ciclo-oxigenase-2 (COX-2).

Apesar de não estar completamente esclarecido de que forma é que o Nrf2 inibe a ativação dos genes de citocinas pró-inflamatórias a nível transcricional, existem estudos que demonstram de forma evidente que as funções anti-inflamatórias do Nrf2 são distintas da sua já conhecida função antioxidante.

Assim sendo, a via Nrf2 desempenha um papel crucial na regulação dos danos inflamatórios nos tecidos, através da transcrição e consequente ativação de genes antioxidantes e citoprotetores, além de impedir a ativação do mediador inflamatório NF-kB. Já a via de sinalização NF-kB, é responsável por regular o inflamassoma, contribuindo para a começo e avanço da resposta inflamatória nos tecidos.

### **3. Aplicações do Nrf2 em dermocosmética**

Atualmente existem muitos produtos cosméticos no mercado que alegam possuir atividade Nrf2. Estes incluem principalmente produtos de cuidados da pele destinados a reduzir os sinais de envelhecimento, a proteger a pele e a auxiliar na sua recuperação de fatores externos. Existem ainda produtos destinados ao cuidado do cabelo, como os que previnem a queda de cabelo e alguns suplementos alimentares com alegações semelhantes.

#### **3.1. Fotoproteção e antienvelhecimento**

O fotoenvelhecimento, também conhecido como um fator extrínseco, é o termo utilizado para descrever o envelhecimento da pele que resulta da exposição a agentes externos como os raios UV.

O Nrf2 pode ser ativado por vários estímulos, incluindo a exposição à radiação ultravioleta (UV), o que o torna numa potencial estratégia para a fotoproteção. De acordo com o que foi mencionado anteriormente, a ativação do Nrf2 pode aumentar a expressão de enzimas antioxidantes e proteínas de reparação do DNA, o que ajuda a proteger as células da pele contra os danos cutâneos resultantes da exposição aos raios UV, bem como na redução da inflamação induzida pelos mesmos.

Esta radiação solar consiste em raios UV, visíveis (luz) e infravermelhos, havendo também radiação ionizante de microondas de comprimentos de onda mais curtos e mais longos. O espectro de radiação UV tem um comprimento de onda entre 100 e 400 nm e divide-se em UVA (315-400 nm), UVB (280-315 nm) e UVC (100-280 nm). Os raios UVC não atingem a superfície da Terra porque são completamente absorvidos pela atmosfera. Os efeitos nocivos dos raios UVC são mínimos. Os raios UVA e UVB, compreendidos entre

300-400 nm são os mais relevantes e mais agressivos para os sistemas biológicos dada a sua elevada energia.

O estrato córneo e a epiderme são penetrados pela radiação UVB de maior energia. Em contrapartida, a radiação UVA penetra mais profundamente na camada dérmica. De um modo geral, o estrato córneo e a epiderme bloqueiam cerca de 50% dos raios UVB e UVA, respetivamente. Consequentemente, apenas uma pequena quantidade de radiação UVB penetra no estrato basal da epiderme e apenas cerca de 10% da radiação UVA atinge a derme(9). Não obstante, a epiderme funciona como uma camada protetora contra os raios UV.

A barreira cutânea e as suas defesas inatas estão regularmente expostas a fatores de stress exógenos, sendo a radiação UV a maior ameaça. A pele é afetada negativamente pela exposição prolongada ou excessiva à luz solar, especialmente à radiação UV que pode resultar em eritema, disfunção da barreira cutânea, modulação imunológica, inflamação e envelhecimento extrínseco precoce. A exposição prolongada aos raios UV está também associada à fotocarcinogénese e a um aumento da incidência de cancro da pele(12). Os efeitos da exposição à radiação solar na pele podem ser tanto a curto como a longo prazo, podendo variar desde processos fisiológicos saudáveis, como a síntese de vitamina D envolvida na proliferação e diferenciação celular, até efeitos prejudiciais, como a fotocarcinogénese cutânea.

Apesar da capacidade que a pele possui para reduzir os possíveis danos celulares, continuam a ser necessárias técnicas de proteção mais completas. Isto é crucial para a criação de estratégias farmacêuticas de proteção contra a fotocarcinogénese. Devido à sobreexpressão de múltiplas proteínas citoprotetoras que podem atenuar os efeitos nocivos da RUV, a ativação do Nrf2 tem o potencial de proporcionar uma proteção da pele completa e duradoura(12).

Investigações recentes demonstraram que a exposição à radiação UV e, em particular à radiação UVB, resulta em perturbações na morfologia epidérmica, apesar do impacto desta radiação na função de barreira epidérmica ainda não estar totalmente esclarecido. Esta perturbação inclui um aumento compensatório da espessura do estrato córneo, alterações na morfologia dos lípidos do estrato córneo e um aumento da perda de água epidérmica - TWEL (*Transepidermal water loss*). A produção excessiva de metaloproteinases da matriz dérmica (MMPs) que clivam as fibras de colagénio e elásticas, incluindo fibras de elastina e glicoproteínas, contribuem para a degradação da pele provocada pelo fotoenvelhecimento induzido pelos raios UV, o que culmina no aparecimento de rímulas, rugas, flacidez e perda de firmeza.

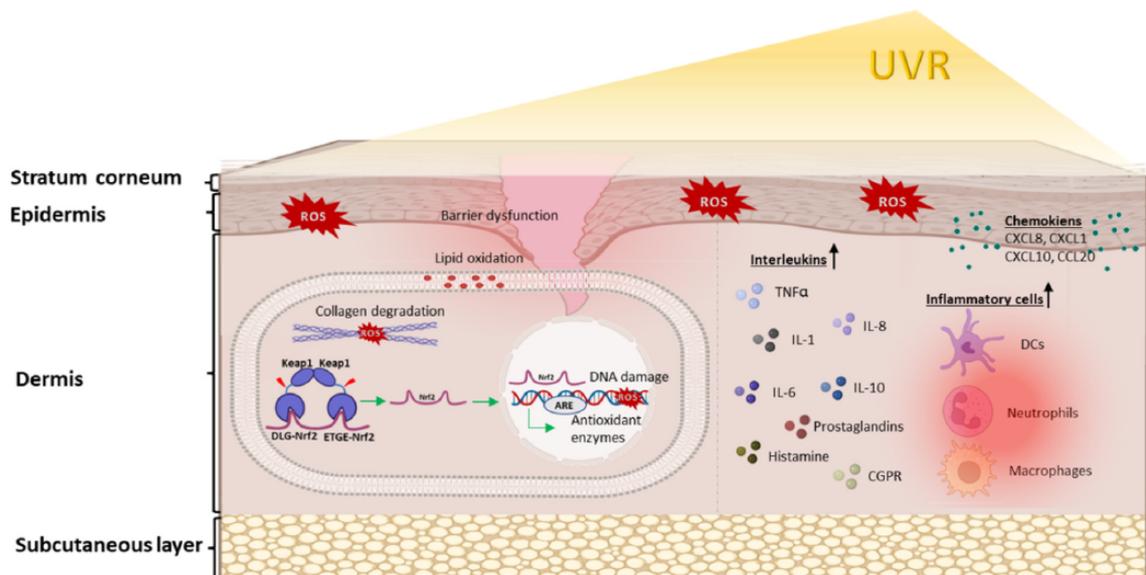
A fibrose induzida pelo *stress* oxidativo pode ser prevenida por esta atividade proteolítica. A via Nrf2 apresenta um duplo benefício neste aspeto, tanto pela neutralização de ROS e controlo da inflamação, como pela redução do risco de fibrose e indução de MMPs. A ativação das MMPs depende da *mitogen-activated protein kinase* (MAPK), da proteína ativadora I (AP-1), do NF- $\kappa$ B e ainda de mutações no DNA mitocondrial, mediando algumas das consequências negativas das ROS induzidas pela radiação UV. As ROS diminuem a sinalização do fator de crescimento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) e a síntese de pró-colagénio(13). Concomitantemente, as ROS induzidas pela radiação UV e a inflamação cutânea estão intimamente relacionadas com a alteração da composição da matriz extracelular.

Através da sua capacidade de impedir a sobreexpressão de citocinas específicas como a IL-6, o Nrf2 está envolvido nas propriedades inflamatórias associadas à epiderme.

É notório que a radiação UVB provoca lesões mutagénicas no DNA tipo dímero pirimidina, e que a radiação UVA esteja provavelmente mais envolvida na produção elevada de espécies reativas de oxigénio (ROS) através da ativação de moléculas fotossensíveis endógenas, que atacam as bases de guanina, resultando na formação de 7,8-dihidro-8-oxoguanina(9). De facto, em termos biológicos, as evidências são menos claras, uma vez que tanto os UVB como os UVA têm a capacidade de produzir dímeros de pirimidina e acelerar os danos oxidativos.

Devido ao enorme potencial carcinogénico destes aductos de DNA, existem sistemas de reparação do DNA eficientes presentes na pele(14). No entanto, estes mecanismos nem sempre são suficientemente eficazes, o que pode resultar em manifestações malignas e pré-malignas que podem progredir para carcinoma, como o melanoma e queratose actínica, respetivamente.

Os radicais oxigénio, como os radicais superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) e hidroxilo ( $OH^{\cdot}$ ) são exemplos de ROS derivados da radiação UV. Como destacado anteriormente, a síntese de 8-oxo-2'-deoxiguanosina e a produção de ROS graças à exposição à radiação UV, juntamente com a produção simultânea de peroxidação lipídica, depleção de enzimas da pele e estimulação de citocinas são processos prejudiciais que alteram a homeostase da pele.



**Figura 2** - Danos cutâneos induzidos pela radiação UV e o envolvimento da via Nrf2(12).

A pele possui um extenso conjunto de mecanismos de defesa enzimáticos e não enzimáticos contra os danos provocados pelas ROS. Antioxidantes como a catalase, SOD, e a GSH peroxidase são constituintes do sistema enzimático, enquanto a vitamina E e C, glutatona (GSH) e os carotenóides constituem o sistema não enzimático. Consequentemente, o sistema endógeno de defesa da pele pode ser estimulado de modo a conseguir limitar ou prevenir o dano celular proveniente das ROS.

Compostos que ativam o Nrf2, como o sulfurafano (SFN) encontrado em vegetais crucíferos podem promover benefícios na prevenção dos danos cutâneos causados pela exposição à luz UV. No entanto, é importante ter em conta que a proteção solar adequada, incluindo o uso de protetor solar com elevado Fator de Proteção Solar (FPS) é ainda a forma mais eficaz de prevenir os danos causados pelo sol e cancro de pele. Assim, a utilização de compostos que ativam o Nrf2 pode ser um complemento útil para a proteção solar.

A utilização de substâncias ativadoras do Nrf2 em formulações de produtos solares e pós solares, pode ser suportada por todos estes fatores.

A vasta ação antioxidante do Nrf2 pode retardar o desenvolvimento do fotoenvelhecimento. A nível celular diminuindo a citotoxicidade e senescência e, a nível tecidual pela atenuação da oxidação das fibras elásticas da derme, diminuindo a gravidade da inflamação induzida pelos raios UV e retardando o desenvolvimento de lesões mutagénicas oxidativas no DNA(12).

### 3.2. Pigmentação cutânea

A pigmentação da pele é um tópico com interesse significativo na área da dermatologia. A cor da pele é determinada pela presença e distribuição da melanina. Diversas condições de pele estão relacionadas com a pigmentação, incluindo hiperpigmentação e hipopigmentação, caracterizadas por excesso ou ausência de melanina, respetivamente. Algumas doenças de pele no âmbito da hiperpigmentação incluem o melasma, hiperpigmentação pós-inflamatória e lentigos solares, enquanto doenças como vitiligo e albinismo estão associadas a hipopigmentação(15).

Geralmente, a pigmentação da pele não é um motivo de elevada preocupação. No entanto, quando existe uma quantidade excessiva ou limitada de pigmentação, esta pode tornar-se incómoda do ponto de vista estético e ter um impacto negativo no bem-estar emocional e psicológico da pessoa devido à perceção dos desvios dos padrões de beleza. Historicamente, as pessoas de diversas origens culturais tinham preferência por um tom de pele mais claro, normalmente associado a uma vida nobre e de beleza, enquanto o tom de pele escuro esteve frequentemente associado ao trabalho pesado nos campos. Contudo, esse estigma mudou ao longo dos anos. Consequentemente, a indústria cosmética continua a crescer a nível mundial, com investimentos significativos no desenvolvimento de produtos de despigmentação e autobronzeadores.

Existe um interesse crescente na investigação de compostos naturais que têm a capacidade de inibir a produção de melanina, podendo ser consideradas alternativas mais seguras em determinados casos. Existem evidências de que o Nrf2 pode desempenhar um papel na regulação da expressão de genes envolvidos na produção de melanina, responsável pela pigmentação da pele, cabelo e olhos. O Nrf2 pode modular a síntese de melanina e, portanto, ter um impacto na pigmentação da pele através de várias vias.

Uma hormona importante na resposta da pigmentação aos raios UVB é a  $\alpha$ -hormona estimulante de melanócitos ( $\alpha$ -MSH). A via p53 é ativada quando se geram danos na pele no DNA dos queratinócitos, o que provoca a libertação de  $\alpha$ -MSH que, por sua vez, ativa a melanogénese nos melanócitos, reparando simultaneamente o DNA. Existe evidência científica de que a radiação UVB possui a capacidade de suprimir a atividade do Nrf2(16). Todavia, o  $\alpha$ -MSH desempenha um papel protetor contra esse efeito negativo, assegurando uma proteção antioxidante contra essa radiação. Isso pressupõe que exista uma ligação entre o Nrf2 e o processo de pigmentação desencadeado pela radiação UV.

Vitiligo é uma patologia dermatológica autoimune, caracterizada por acromia. A ausência de pigmentação em determinadas zonas da pele resulta da perda de melanócitos na epiderme, devido à toxicidade celular associada ao *stress* oxidativo(17).

Algumas investigações recentes têm demonstrado que existe um desequilíbrio entre a produção de ROS e a capacidade de o sistema de destoxificação neutralizar os efeitos causados pelo excesso de *stress* oxidativo. Atualmente, é reconhecido que o *stress* oxidativo desempenha um papel significativo na etiologia da vitiligo(16). Consequentemente, o aumento dos níveis de *stress* oxidativo pode contribuir para a progressão da vitiligo, evidenciando os moduladores do Nrf2 como eficazes no tratamento da doença.

Os doentes com vitiligo têm elevada vulnerabilidade ao *stress* oxidativo, nomeadamente induzido por peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ), apresentando um aumento da expressão de HO-1 nos melanócitos(17).

Devido à sua capacidade de induzir diretamente a apoptose dos melanócitos e de desencadear uma resposta autoimune que, em última análise, resulta na perda de melanócitos, o *stress* oxidativo desempenha um papel crucial no desenvolvimento e progressão da vitiligo. No caso de ocorrer algum erro na ativação da via Nrf2, os melanócitos são mais suscetíveis ao *stress* oxidativo(16). Posto isto, o aumento da expressão de Nrf2 pode ser vantajoso no tratamento desta patologia. No entanto, são necessárias mais investigações e dados experimentais para se conseguir obter uma melhor compreensão do impacto preciso e dos mecanismos destas substâncias quando usadas no tratamento de doentes com vitiligo.

### **3.3. Inflamação e função barreira da pele**

A interação entre o Nrf2 e o recetor de hidrocarbonetos de arilo (AHR) desempenha um papel crucial na manutenção da integridade da barreira cutânea, especialmente em períodos de *stress* ou condições dermatológicas(18), como a dermatite atópica (DA).

Esta doença inflamatória crónica da pele é caracterizada por desregulação imunológica, falha da barreira epidérmica, nomeadamente no componente FLG, hipersensibilidade ao impacto ambiental, como o frio, poluição, *stress* oxidativo e desequilíbrio do microbioma da pele. A pele apresenta défice de proteínas, como a FLG e NMF, assim como em lípidos, incluindo ceramidas e ácidos gordos essenciais. Isto resulta em xerose e descamação da pele, o que aumenta a sua permeabilidade a alérgenos(19). A DA apresenta sintomas como inflamação local anormal, barreira cutânea comprometida e prurido persistente, fatores que têm um grande impacto no bem-estar geral e na qualidade de vida dos indivíduos que vivem com esta doença.

Embora a fisiopatologia da DA pareça incluir interações complexas entre fatores hereditários e ambientais, o aumento da prevalência da DA reforça a ideia de que os fatores

ambientais têm uma grande influência no desenvolvimento e agravamento da doença em indivíduos predispostos(20). Tem sido demonstrado in vivo que ocorre produção de ROS em patologias como as dermatites, caracterizadas por inflamação da pele. Uma investigação verificou que no local da pele inflamada em dermatite induzida por antígenos de ácaros foram produzidas grandes quantidade de ROS(20). Por conseguinte, o *stress* oxidativo é uma das respostas celulares mais significativas nesta patologia.

Uma vez que a DA está também associada a uma resposta imunológica anormal e inflamação, as interleucinas (IL) desempenham um papel importante na patogénese da doença, uma vez que contribuem para a inflamação e restantes sintomas associados. As IL são proteínas sinalizadoras que têm a capacidade de regular a resposta inflamatória através da cascata inflamatória que leva à irritação e rubor da pele, desempenhando um papel crucial na inflamação e resposta imunológica exagerada. A IL-4 e a IL-13 estão associadas à resposta imunológica alérgica e à alteração da barreira cutânea que culmina com a TEWL e redução da produção de proteínas da JDE que mantêm a integridade da pele, respetivamente(21). Foi proposto que as citocinas IL-13 e IL-4 desempenham um papel fundamental na patogénese da DA, uma vez que ativam a proteína oxidase dupla I (DUOX1)(22), resultando na produção de ROS.

Tal como destacado anteriormente, o Nrf2 exerce funções protetoras contra o *stress* oxidativo e inflamação e tem a capacidade de regular a expressão de genes envolvidos na resposta antioxidante e anti-inflamatória. Deste modo, tem sido demonstrado que pacientes com DA podem apresentar níveis reduzidos de Nrf2 na pele, o que resulta numa menor proteção contra o *stress* oxidativo e inflamação. Assim, a disfunção do Nrf2 pode contribuir para o ciclo inflamatório crónico observado na DA.

O fator de transcrição AHR é ativado por uma grande variedade de ligandos exógenos, dos quais se destacam os poluentes ambientais hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) e dioxinas. A proteção celular contra o *stress* ambiental é controlada principalmente pelos fatores de transcrição AHR e Nrf2. Ambos têm um papel fundamental na transformação de moléculas hidrofóbicas em moléculas solúveis em água, permitindo a sua fácil eliminação do organismo através da urina, fezes e suor.

Demonstrou-se que o Nrf2 regula diretamente a transcrição de mRNA do AHR(23). Por conseguinte, parece que os ligandos AHR influenciam direta ou indiretamente a atividade do Nrf2. Ambos os sistemas atuam contra o *stress* ambiental em vários tecidos, incluindo a pele, através da manutenção da homeostase epidérmica, para além das funções que ajudam a eliminar as substâncias tóxicas. Porém, são necessários mais estudos de modo a esclarecer a relação entre a ativação de AHR e a indução de Nrf2.

A competição entre os genes que codificam as proteínas reguladoras IL-13/IL-4 e o AHR controlam a função da barreira da pele. O eixo IL-13/IL-4 regula negativamente a expressão de FLG, LOR e IVL, perturbando a função barreira. Por outro lado, o eixo AHR regula positivamente a expressão de FLG, LOR e IVL, reforçando a barreira cutânea. Os agonistas antioxidantes AHR, como o alcatrão de carvão, alcatrão de soja – Glyteer, um conhecido ativador do AHR e o tapinarof ativam tanto o AHR como o fator de transcrição Nrf2(24). Além disso, através das enzimas antioxidantes induzidas pela ativação do Nrf2, estes compostos podem neutralizar as ROS.

O alcatrão de carvão e o Glyteer são misturas naturais usadas no tratamento de dermatites, dado que estimulam o sistema AHR e promovem um aumento na produção de FLG. Desta forma, contribuem na recuperação da função barreira da pele, acelerando a diferenciação epidérmica.

A ativação do AHR é capaz de remodelar a expressão de FLG, no entanto não inibe a produção de ROS. Contudo, o alcatrão de carvão e o Glyteer para além de ativarem o AHR ativam também o Nrf2(24). Esta dupla ativação do AHR/Nrf2 tem o poder de amplificar a regulação de diversas enzimas antioxidantes e neutralizar a produção de ROS controlada por IL-13/IL-4. Devido à complexidade das composições do alcatrão de carvão e do Glyteer, a atividade terapêutica destes compostos não é uniforme.

O tapinarof, 3,5-dihydroxy-4-isopropyl-*trans*-stilbene, um estilbeno natural de origem bacteriana, é um composto antioxidante agonista do AHR, tem despertado um interesse crescente no tratamento da DA. O tapinarof além de exibir propriedades antioxidantes, induz a expressão de mRNA de marcadores de diferenciação epidérmica – FLG e IVL – através da estimulação do AHR/Nrf2(25).

Devido às distintas propriedades funcionais dos componentes envolvidos no tratamento da DA, uma abordagem terapêutica combinada que envolva a ativação simultânea de AHR/Nrf2 e a inibição do eixo IL-13/IL-4 poderia ser pertinente e promissora.

### **3.4. Folículo capilar**

O folículo capilar é uma estrutura presente no couro cabeludo, fundamental na saúde e crescimento do cabelo. A importância do cabelo vai muito para além da sua função estética, representando um grande impacto na autoestima e identidade pessoal. O cabelo desempenha funções na proteção do couro cabeludo contra agentes externos como a radiação solar, regulação da temperatura corporal, prevenção da perda excessiva de calor e ainda na proteção contra lesões diretas na área do couro cabeludo.

Deve ser mantido um equilíbrio controlado entre os níveis fisiológicos e o excesso de ROS, de modo a minimizar os danos às macromoléculas celulares, uma vez que a produção endógena de ROS é essencial para numerosos processos de sinalização celular(26), incluindo os que estão associados ao folículo piloso.

Os folículos capilares estão inseridos no couro cabeludo e, por isso, são frequentemente expostos a *stress* oxidativo. Na verdade, uma parte significativa do envelhecimento dos folículos capilares é provavelmente causada pelo *stress* oxidativo(26). Apesar da percepção de que os folículos pilosos possuem uma resistência relativamente elevada às ROS, a exposição prolongada a níveis elevados gerados durante o processo de produção de melanina no folículo pode ser um dos fatores responsáveis pelo desenvolvimento de envelhecimento do cabelo.

Desta forma, seria altamente relevante do ponto de vista clínico se o folículo capilar apresentasse melhor resistência a indutores químicos, físicos ou pró-inflamatórios do *stress* oxidativo numa vasta quantidade de doenças associadas ao cabelo, tais como queda de cabelo induzida por quimioterapia ou radioterapia, alopecia areata, alopecia androgenética, entre outras.

A rápida multiplicação de queratinócitos na matriz capilar e a função mitocondrial ativa observada na bainha externa da raiz e na matriz capilar dos seres humanos indicam que estas regiões estão constantemente expostas a *stress* oxidativo durante a fase de crescimento ativo do folículo capilar – fase anagénica. Assim, pode afirmar-se que na presença de *stress* oxidativo, a ativação do Nrf2 pode ser um fator essencial na proteção dos queratinócitos da matriz altamente proliferativos e sensíveis aos danos do folículo capilar em fase anagénica contra a apoptose induzida e consequente entrada na catagénese, ou seja, na fase de transição para a queda prematura do folículo capilar.

De modo a analisar folículos capilares humanos após a ativação de Nrf2 com o antioxidante SFN, um estudo realizado evidenciou que este composto teve um efeito considerável ao diminuir os níveis de ROS e a subsequente peroxidação lipídica provocada pelos níveis elevados de ROS e, consequentemente, a apoptose celular provocada por indução de *stress* oxidativo. A pré-ativação do Nrf2 reduziu significativamente a apoptose dos queratinócitos da matriz dependente de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, diminuiu a entrada prematura na catagénese e inibiu o crescimento capilar provocado pelo *stress* oxidativo(26).

A expressão de diversos genes alvo, incluindo os que estão envolvidos nas vias de redução de quinonas reativas, eliminação direta de ROS, homeostase da GSH, citoproteção e produção de NADPH, é induzida pela ativação de Nrf2 e os seus moduladores. Do mesmo modo, o aumento da reutilização e produção de glutatião (GSH)(27), bem como a

manutenção dos níveis de NADPH, a melhoria da eliminação de ROS e a proteção celular pela HO-1, contribuem para proteger o folículo piloso dos efeitos nocivos associados a diversos fatores de *stress* oxidativo que desencadeiam a indução da catagênese.

Foi ainda sugerido que a acumulação excessiva de ROS é um fator que induz tanto a senescência das células do folículo piloso como a alopecia androgenética. Além disso, a inflamação associada a estas condições é intensificada pelas ações pró-oxidantes dos macrófagos e neutrófilos, que libertam H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Este estudo apresenta evidências conclusivas de que a proteção dos folículos capilares humanos contra a inibição do crescimento causada pelo *stress* oxidativo e início da catagênese depende da atividade do Nrf2(26). Assim, a utilização de um ativador do Nrf2 como o SFN pode ser uma abordagem altamente favorável tanto no tratamento como para mitigar os efeitos nocivos causados pela acumulação excessiva de ROS endógenas e exógenas nos folículos pilosos.

Noutro estudo realizado pode constatar-se que o uso de Bixina, um apocarotenóide proveniente das sementes da árvore *Bixa orellana*, ativa o Nrf2 e demonstrou ser eficaz na proteção dos folículos capilares de ratos *in vivo* contra os efeitos do envelhecimento, nomeadamente na perda de pigmentação do cabelo(28). O envelhecimento foi induzido pelo tratamento tópico com psoraleno, uma furanocumarina, e radiação UVA. A ativação do Nrf2 pela Bixina promoveu a regulação positiva da síntese de GSH, dos sistemas enzimáticos antioxidantes como o NQO-1 e HO-1 e a eliminação de proteínas e lípidos oxidados através da ativação da autofagia pela proteína p62. Porém, animais que não expressem o fator Nrf2 não apresentam essa proteção(28).

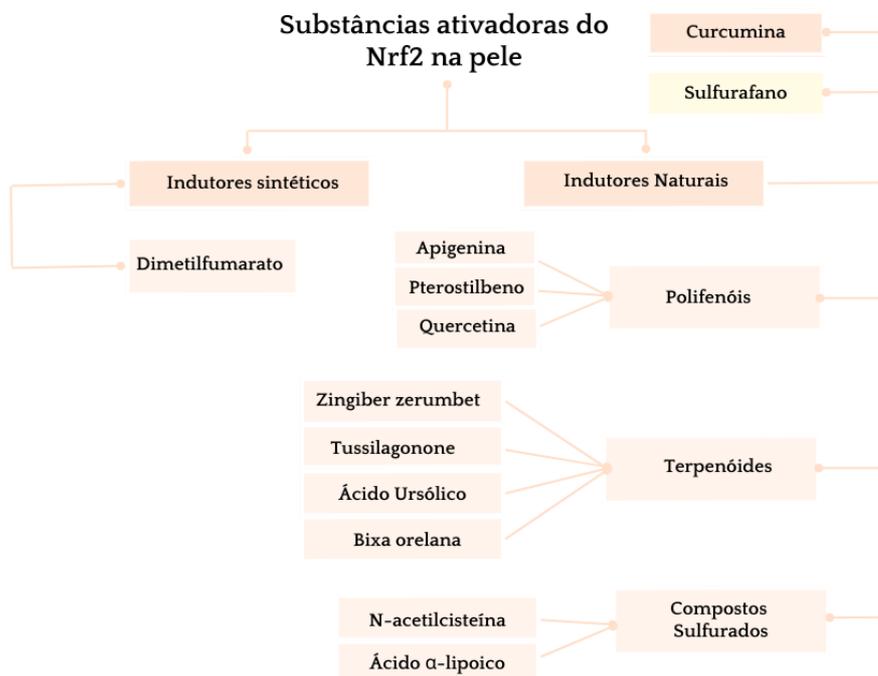
Não obstante, são necessárias mais investigações para se compreender efetivamente quais as vias específicas e substâncias envolvidas responsáveis pela proteção dependente de Nrf2 contra o envelhecimento capilar induzido por fototerapia. Por conseguinte, existem várias vias de resposta ao *stress* reguladas pelo Nrf2 que desempenham uma função protetora nos melanócitos contra os efeitos prejudiciais dos eletrófilos ambientais e do envelhecimento do cabelo relacionado com o *stress*.

#### **4. Moduladores de Nrf2 como pesquisa estratégica no tratamento da pele e couro cabeludo**

##### **4.1. Vias estratégicas Keap1 dependentes**

Desde a descoberta do ARE, frequentemente localizado no promotor das enzimas antioxidantes no metabolismo da fase II, e do Nrf2, o fator de transcrição que se liga ao ARE, que área de estudo tem tido um avanço bastante significativo. Assim, a via mediada

pelo Nrf2 tem ganho notoriedade ao longo das últimas décadas, sendo já reconhecida como uma via fundamental nos mecanismos de defesa celulares.



**Figura 3** - Representação dos ativadores de Nrf2 na pele.

Diferentes substâncias naturais e sintéticas capazes de modular o Nrf2 têm sido exploradas, bem como os seus potenciais efeitos protetores na pele tendo em conta a sua relevância em aplicações dermatológicas e cosméticas. O fator de transcrição Nrf2 e os produtos naturais estão profundamente interligados, uma vez que a base científica do Nrf2 e das suas funções complexas foi descoberto através da utilização intencional e não intencional de produtos naturais. Estas substâncias naturais desempenharam, então, um papel significativo na descoberta do Nrf2 em termos biológicos.

Os produtos naturais têm sido utilizados como fonte de substâncias químicas para explorar e criar potenciais tratamentos clínicos. Os efeitos destes compostos que ativam os antioxidantes acabaram por levar à identificação do ARE, localizado na região promotora dos genes que são regulados positivamente.

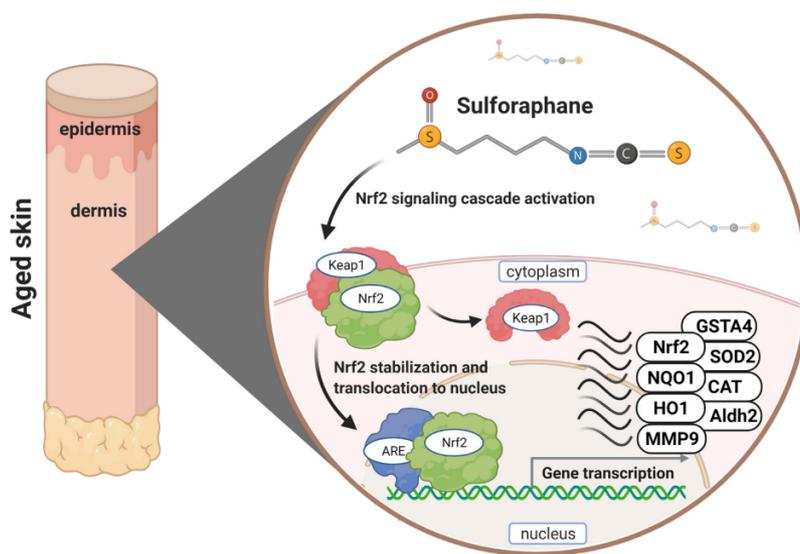
Em alternativa, alguns compostos, especialmente os polifenóis, têm a capacidade de influenciar indiretamente a regulação do Nrf2 através do ciclo redox fenol/quinona, melhorando o ciclo do radical hidroxilo que gera continuamente baixas quantidades de peróxido de hidrogénio e radicais superóxidos, contribuindo para um melhor desempenho do comportamento oxidativo celular. Este mecanismo de resposta adaptativa induz uma ligeira redução na taxa de GSH, resultando na ativação da via MAPK.

Vários compostos de origem vegetal, incluindo os fitoquímicos, apresentam um perfil com atividades multifarmacológicas, sendo capazes de ativar a via Nrf2 através de mecanismos indiretos não específicos. Além disso, alguns destes compostos podem atuar tanto de forma dependente como independente do Keap1.

#### 4.1.1. Agentes eletrofilicos

##### 4.1.1.1. Sulfurafano

Entre as primeiras descobertas de produtos naturais com atividade relacionada com o Nrf2 encontra-se o sulfurafano, SFN, um isotiocianato presente nos vegetais crucíferos, em particular nas sementes e rebentos de brócolos. Trata-se de um composto natural organossulfurado, um dos mais potentes indutores das vias dependentes de Nrf2, tendo a capacidade de reagir com os resíduos de cisteína, especialmente os C151, do repressor Keap1(29). A exposição celular ao stress ambiental como toxinas pode perturbar o complexo Keap1-Nrf2, levando à dissociação do Nrf2. Ao modificar os resíduos de cisteína do Keap1, o Nrf2 dissocia-se do complexo Keap1/Nrf2 e segue para o núcleo com a consequente ativação da expressão do gene ARE para regular a transcrição dos genes citoprotetores.



**Figura 4** - Ativação da cascata de sinalização Nrf2 em pele envelhecida pelo sulfurafano(30).

A *epidermolysis bullosa simplex* (EBS) é uma doença hereditária que se desenvolve após um dano mecânico que resulta na perda da integridade da epiderme. Investigações recentes demonstraram que o SFN desencadeou processos transcricionais distintos, induzindo a expressão das queratinas 16 e 17, com redução da formação de bolhas características em ratinhos neonatais sem expressão para a queratina 14, um modelo de EBS(31). Assim,

sugeriu-se que as vias dependentes e independentes de Nrf2 estão envolvidas em alterações dos níveis de queratina 16 e 17 na epiderme tratada com SFN.

A administração tópica de extratos que contêm SFN reduziram a gravidade do eritema cutâneo induzido pela radiação UV, um indicador de danos cutâneos e do risco de cancro da pele em voluntários humanos saudáveis. Após a exposição aguda de animais à radiação UV, a ativação do Nrf2 por meios genéticos ou farmacológicos reduziu a expressão de moléculas pró-inflamatórias como a IL-6, IL-1 e a COX-2(13).

De acordo com uma investigação que avaliou o efeito da suplementação com SFN no envelhecimento da pele, pode constatar-se que este composto tem, de facto, resultados no tratamento da pele. Através da ativação da via Keap1/Nrf2, confere proteção contra o stress oxidativo através da redução na produção de ROS e dos efeitos nocivos das metaloproteinases (MMPs), o que, por sua vez, permite a reestruturação do colagénio presente na derme(30).

Com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, o SFN é descrito como um potente citoprotetor. Diversos estudos pré-clínicos e clínicos têm demonstrado que a aplicação tópica de SFN ou de extratos de rebentos de brócolos contendo SFN, podem proteger a pele do eritema e pigmentação induzidos pela radiação UV, evidenciando assim as propriedades anti-inflamatórias e anti-envelhecimento do SFN e dos seus precursores na pele. No entanto, devido à sua instabilidade, as formulações tópicas são ainda um grande desafio. Além disso, a ativação do seu precursor glucorafanina ou dos extratos de rebentos de brócolos exige a presença de uma enzima que pode não estar presente na pele. Não obstante, um grupo de investigação propôs uma pomada à base de polietilenoglicol (PEG) com SFN que fosse suficientemente estável para manter a eficácia *in vivo* num modelo de ratos(32).

#### **4.1.1.2. Curcumina**

A curcumina, ou diferulolilmetano, é um polifenol extraído das raízes da *Curcuma longa* com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Devido à sua estrutura química, comporta-se como um quelante e como um eletrófilo capaz de interagir com a Cys151 do Keap1, impedindo a ubiquitinação do Nrf2(33). Além disso, de modo a induzir a via Nrf2, a curcumina atua através de outras vias localizadas a montante.

Variadas patologias cutâneas, incluindo doenças com componente inflamatório como a psoríase, DA, vitiligo, acne e até em cicatrização de feridas, foram atenuadas através da utilização de curcumina oral ou tópica(34). Além disso, confere proteção contra os danos

cutâneos provocados pela radiação UVB(35). Porém, é de salientar que estes efeitos benéficos da curcumina podem resultar de uma ação polifarmacológica, e não só em função do Nrf2.

A curcumina parece atuar melhor quando aplicada topicamente, uma vez que tem um impacto mais direcionado nas condições da pele. Embora tenha um grande potencial, a sua baixa solubilidade aquosa, fraca absorção cutânea e a degradação impedem a sua utilização comercial(36).

#### **4.1.1.3. Dimetilfumarato**

A única substância moduladora do Nrf2 aprovada para uso clínico é o dimetilfumarato, um ácido dicarboxílico  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturado (DMF), um derivado semissintético do fumarato.

O DMF foi inicialmente autorizado pela Agência Europeia do Medicamento (EMA) para o tratamento oral da psoríase- Fumaderm<sup>®</sup> e Skilarence<sup>®</sup> e, mais tarde, a *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou a sua utilização para o tratamento das recidivas na esclerose múltipla - Tecfidera<sup>®</sup>. Graças às suas propriedades anti-inflamatórias e imunomoduladoras, o Skilarence<sup>®</sup> reduz a severidade da psoríase, melhorando a qualidade de vida dos doentes.

O DMF tem a capacidade de ativar a via Nrf2, provocando uma diminuição dos níveis de GSH através da formação de aductos GSH-DMF(37). No caso da psoríase, acredita-se que o DMF alivia a inflamação celular através de dois mecanismos. Em primeiro lugar, reduz os níveis de GSH nas células imunitárias, inibindo assim o NF- $\kappa$ B. Em segundo lugar, provoca uma mudança de uma resposta imunitária Th1/Th17 para Th2(38), resultando numa resposta anti-inflamatória.

Com base nas investigações sobre o seu mecanismo de ação, é evidente que o DMF e os seus derivados estimulam a via Nrf2, o que pode explicar os numerosos benefícios associados ao tratamento com DMF. Através da sua reatividade eletrofílica com as cisteínas do Keap1, o DMF é descrito como um ativador do Nrf2. No entanto, à semelhança de outras substâncias que ativam o Nrf2, o mecanismo de ação do DMF não é claro, tendo já sido identificadas ações adicionais que não envolvem somente o Nrf2. Embora sejam necessárias mais investigações para compreender corretamente este composto, é possível que seja através da combinação dos efeitos dependentes e independentes do Nrf2 que, em última análise, resultam no tratamento da doença.

#### 4.1.2. Compostos naturais

Diversas investigações têm-se centrado nos efeitos que as substâncias naturais têm na via Nrf2-Keap1-ARE. Os terpenóides e polifenóis, em particular, têm sido amplamente estudados pelos seus diversos mecanismos. É importante notar que a eficácia destes compostos nos produtos destinados a cuidados de pele pode variar dependendo de vários fatores, como o tipo de composto, a sua concentração, formulação, método de administração e ainda variabilidade interindividual.

##### 4.1.2.1. Terpenóides

Os efeitos protetores da pele do zerumbone, um sesquiterpeno natural do *Zingiber zerumbet*, estão associados à indução de genes antioxidantes mediados pela via Nrf2/ARE e aos níveis de GSH. O zerumbone tem uma porção carbonilo  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturada que pode servir como um eletrófilo e induzir enzimas de desintoxicação de fase II dependentes de Nrf2/ARE, incluindo HO-1,  $\gamma$ -GCLC e glutatíon peroxidase(39).

A sua utilização melhorou significativamente a citotoxicidade provocada pela radiação UVA através do aumento da translocação nuclear de Nrf2 e genes antioxidantes dependentes de Nrf2 em tecidos cutâneos submetidos à exposição a radiação UVA. Como já referido anteriormente, os danos cutâneos induzidos pelos raios UVA estão intimamente associados à produção excessiva de ROS, sendo a utilização de antioxidantes exógenos ou a ativação das vias antioxidantes endógenas estratégias eficazes para prevenir esses danos. Quando as moléculas de zerumbone atingem a camada inferior da pele, podem estimular a sinalização Nrf2 a induzir genes antioxidantes e suprimir os danos à pele mediados por ROS(39).

Assim, a inclusão de antioxidantes naturais, como o zerumbone, em formulações de protetores solares poderia aumentar os níveis de antioxidantes nas células cutâneas e eliminar ROS tóxicas induzidas pelos raios UVA e, conseqüentemente, os danos na pele. Assim, o zerumbone pode ser considerado uma substância natural para tratar e prevenir os danos e o envelhecimento da pele causados pela radiação UVA.

Tussilagonone, um sesquiterpeno isolado de *Tussilago farfara*, demonstrou ter efeitos farmacológicos relevantes na patogénese da psoríase. Atenuou significativamente os níveis de mRNA de citocinas inflamatórias e peptídeos antimicrobianos associados à psoríase, reduzindo também a hiperproliferação epidérmica(40). A via Nrf2 ativada pelo Tussilagonone tem um papel essencial na regulação de fatores de transcrição. Assim, a ativação farmacológica de Nrf2 pode aliviar os sintomas da psoríase através da sinalização

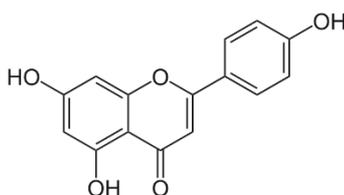
com fatores de transcrição relacionados com a patologia. Como potente ativador do Nrf2, este composto de origem natural com propriedades anti-inflamatórias é um candidato terapêutico promissor no desenvolvimento de um novo medicamento para a psoríase.

O ácido ursólico, um composto triterpenóide, demonstrou ter um efeito protetor contra o melanoma induzido pela radiação UVB. Este efeito foi atribuído, em parte, ao envolvimento da via Nrf2 e à sua regulação de genes localizados a montante e a jusante(41).

Quanto aos carotenóides, a Bixina proveniente da *Bixa Orelana* referida na secção 4.4., demonstrou ser eficaz na prevenção contra o envelhecimento capilar através da via Nrf2(28). A fucoxantina, um carotenóide presente em algas, reduziu tanto a hiperplasia epidérmica como o eritema cutâneo provocado pela radiação UVB, fornecendo mais evidências de que o seu mecanismo atua através de uma regulação epigenética e de um aumento da expressão de Nrf2(42).

#### 4.1.2.2. Polifenóis

Os polifenóis são um grupo diversificado de compostos presentes nas plantas conhecidos pelas suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, além de desempenharem um papel crucial nos mecanismos de defesa das plantas. No contexto da pele, os polifenóis possuem benefícios com bastante potencial, tais como atividade antioxidante, anti-inflamatória, fotoproteção, combate no antienvelhecimento cutâneo, despigmentação e ainda manutenção da função barreira da pele.

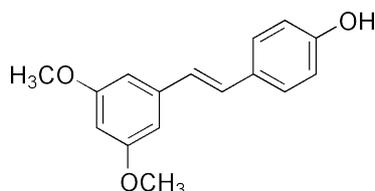


**Figura 5** - Estrutura do polifenol apigenina.

A apigenina é um flavonóide que está presente em vegetais e frutos, apresentando propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes. Um estudo investigou as funções da apigenina nos melanócitos de doentes com vitiligo sob stress oxidativo induzido por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Este polifenol aumentou as atividades das enzimas SOD, CAT e GSH peroxidase, aumentando a resistência aos efeitos tóxicos celulares provocados pelo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. O bloqueio de Nrf2 pelo si-RNA bloqueou significativamente as funções da apigenina em melanócitos tratados com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sugerindo que a propriedade antioxidante da apigenina pode ser

atribuída à sua regulação sobre Nrf2 e genes alvo(43). Isto indica que a proteção gerada pela apigenina só está presente quando o Nrf2 se encontra funcional.

Deste modo, a apigenina pode revelar-se uma estratégia de tratamento a longo prazo na vitiligo devido à toxicidade inexistente e à sua capacidade de influenciar uma série de parâmetros relacionados com o *stress* oxidativo através dos seus efeitos na sinalização do Nrf2 nos melanócitos.



**Figura 6** - Estrutura do polifenol pterostilbeno.

O polifenol pterostilbeno (PT) pode encontrar-se em vários tipos de uvas e ativa significativamente o Nrf2, interferindo precocemente com a melanogénese(44). Pode, por conseguinte, ser utilizado como um candidato tópico em formulações de aclaramento da pele, uma vez que é um poderoso agente branqueador da pele e antioxidante. Este polifenol natural tem semelhanças estruturais com a substância resveratrol, outro reconhecido estilbeno. No entanto, o PT tem maior biodisponibilidade e atividade farmacológica do que o resveratrol devido à presença de dois grupos metoxi (-OCH<sub>3</sub>), o que lhe confere uma maior permeabilidade membranar e estabilidade metabólica(44).

O PT afeta a redução da pigmentação em células de melanoma(44). Descobriu-se que este composto diminui a produção da proteína tirosinase, envolvida na síntese da melanina. Este foi mais eficaz do que o resveratrol no controlo da produção de melanina induzida pelo  $\alpha$ -MSH em determinadas células. Além disso, verificou-se que o PT providencia proteção aos queratinócitos humanos contra danos causados pela radiação UV, ativando a via antioxidante Nrf2/ARE(44). É importante mencionar que o que este composto tem sido reconhecido como adjuvante no tratamento e prevenção de vários distúrbios da pele, induzindo a autofagia, um processo celular que degrada componentes da própria célula.

Estes resultados destacam a forte capacidade do PT suprimir a produção de melanina através da ativação da via de sinalização Nrf2 e da inibição da produção de  $\alpha$ -MSH induzida pela radiação UVA em células.

A quercetina é um flavonóide presente em variadas frutas e vegetais. Os efeitos farmacológicos da quercetina são bem estabelecidos, tais como os efeitos antioxidantes, anti-

inflamatórios, antialérgicos, regulação da libertação de IL-6, IL-8 e libertação de histamina pelos mastócitos(45).

Recentemente, demonstrou-se que o tratamento com quercetina atenuou o desenvolvimento das lesões cutâneas em doentes com DA. Através de análises histopatológicas, pode-se constatar que a quercetina conseguiu inibir a hiperqueratose, paraqueratose, acantose, mastócitos e a infiltração de células inflamatórias. Além disso, diminuiu os níveis celulares da COX-2, TNF- $\alpha$ , IL-4, INF $\gamma$  e aumentou os de Nrf2, o que pode indicar ser um alvo promissor na DA através da modulação da via HMGBI/RAGE/NFKB e a indução da proteína Nrf2(45). Outros estudos sugerem que este composto polifenólico pode ativar expressão de genes dependentes de ARE através do aumento do Nrf2 nuclear na pele atópica. Perante estes resultados, a quercetina pode ser um alvo terapêutico eficaz na redução do desenvolvimento da DA.

#### 4.1.2.3. Compostos sulfurados

Os compostos organossulfurados interagem principalmente com o Nrf2, modificando resíduos específicos de cisteína na proteína Keap1. Contudo, estes compostos podem ativar o Nrf2 através de mecanismos alternativos, como vias antioxidantes indiretas influenciando outros alvos que estão a montante ou a jusante do Nrf2.



**Figura 7** - Estrutura química dos compostos organossulfurados.

A N-acetilcisteína (NAC), é um precursor da glutathiona, potente antioxidante endógeno, e tem sido estudado no contexto da dermatologia devido à sua relação com o fator de transcrição Nrf2. O modo como a NAC participa nas vias inflamatórias pode estar associado aos resultados positivos observados quando se utiliza como componente no tratamento de condições cutâneas específicas(46).

Este composto tem propriedades antioxidantes e consegue estimular diretamente e indiretamente a via de sinalização do Nrf2. Diretamente graças à redução da ligação

dissulfureto, à capacidade de eliminação de ROS do seu grupo tiol e à sua capacidade de promover a translocação nuclear de Nrf2. Indiretamente através da recuperação da atividade Nrf2 mediada pela eliminação de ROS, aumentando a expressão de Nrf2 e, por isso na proteção da pele contra o *stress oxidativo*.(47) Porém, embora a NAC seja um ingrediente cosmético e a sua potencial aplicação em dermatologia tenha sido recentemente investigada, não foi estabelecida qualquer ligação direta entre a NAC e a estimulação da via Nrf2. De facto, existe uma série de métodos ainda não descritos através dos quais a NAC pode atuar.

O ácido  $\alpha$ -lipóico (AAL) é uma substância natural presente em determinados alimentos. É um co-fator endógeno essencial sintetizado nos complexos enzimáticos nas mitocôndrias, a partir da cisteína e do ácido octanóico, precursores do AAL(48).

O AAL é um ingrediente cosmético que se insere na categoria dos antioxidantes. O AAL é uma molécula antioxidante com a capacidade de modular o equilíbrio redox das células através da eliminação de ROS, quelar de iões metálicos e interagir com antioxidantes endógenos e exógenos(49). Entre os seus vários mecanismos de ação, o AAL age como um ativador do Nrf2, promovendo a expressão das enzimas de desintoxicação envolvidas no metabolismo de fase II. Graças a esta propriedade, atua na prevenção do *stress oxidativo* e modula a sinalização de citocinas como agente anti-inflamatório, o que contribui para tratamentos tópicos da pele relacionados com o *stress oxidativo* associado ao envelhecimento cutâneo, cicatrização de feridas e proteção contra os danos cutâneos induzidos pelo fumo e poluição(48). Contudo, a sua utilização nestas afeções cutâneas ainda é um pouco controversa dentro da comunidade científica devido ao seu mecanismo de ação ainda não estar completamente esclarecido.

O AAL tem tendência para que ocorra abertura do anel devido ao seu anel ditiolano, resultando na recombinação com tióis livres presentes nas proximidades, incluindo as cisteínas do Keap1(50). Assim, esta propriedade pode ser um fator que contribui para a sua capacidade de regular a via Nrf2.

#### **4.1.3. Regulação epigenética**

A regulação epigenética refere-se a mudanças na expressão genética que não envolvem alterações na sequência de DNA. Com a identificação dos primeiros reguladores epigenéticos do Nrf2, incluindo a curcumina, o SFN, o resveratrol e o ácido ursólico, a investigação sobre a regulação do Nrf2 está agora a entrar numa nova fase. Isto permite a criação de novas oportunidades para diferentes mecanismos de regulação do Nrf2 que atuam a nível transcricional, pós-transcricional e pós-traducional(50).

As alterações epigenéticas têm uma natureza reversível, o que as torna numa via apelativa para a intervenção em determinadas doenças, como o cancro(51). Na dermatologia a regulação epigenética é particularmente relevante para a compreensão do desenvolvimento de doenças de pele, bem como para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. Além disso, fatores ambientais, como a exposição à luz solar, poluição e toxinas podem influenciar a regulação epigenética da pele.

Um dos exemplos de regulação epigenética em dermatologia está relacionado com o cancro de pele. Sabe-se atualmente que certas modificações epigenéticas podem inativar genes supressores de tumor ou ainda ativar genes pró-cancerígenos, contribuindo para o desenvolvimento do cancro da pele(51). Embora a investigação nesta área ainda esteja pouco desenvolvida, os mecanismos epigenéticos têm um grande potencial para o diagnóstico precoce, identificação de biomarcadores, desenvolvimento de terapêuticas mais personalizadas, abordagens inovadoras e até mesmo a possibilidade de reverter modificações epigenéticas indesejadas.

Ainda assim, é importante ressaltar que a regulação epigenética interage tanto com fatores genéticos como ambientais, sendo necessárias mais investigações para clarificar essa interação complexa e a forma como afeta a saúde da pele.

## 5. Conclusões e Perspetivas Futuras

O fator de transcrição Nrf2 regula a ativação de genes responsáveis pela proteção contra o *stress* oxidativo e pela desintoxicação de substâncias nocivas. Diversas investigações demonstram o envolvimento do Nrf2 na proteção da pele contra a radiação UV, redução a inflamação, diferenciação epidérmica para a manutenção da função de barreira, envelhecimento e patologias capilares.

A proteção da pele implica a cooperação de diferentes mecanismos. A produção de proteínas antioxidantes, que dependem da atividade do fator de transcrição Nrf2, ajuda a proteger os componentes celulares dos danos oxidativos. O aumento da atividade do Nrf2 melhora a resistência das células aos danos oxidativos produzidos pelos raios UV e por outros fatores externos.

A patogênese de diversas doenças como a vitiligo tem sido associada ao *stress* oxidativo e os mecanismos de defesa das células estão ligados à via Nrf2/Keap1/ARE. Assim, o aumento da atividade do Nrf2 poderia ser uma abordagem promissora para o tratamento de doenças de pele associadas ao *stress* oxidativo. Diversos estudos indicam que várias substâncias podem proteger as células da pele contra o *stress* oxidativo através da ativação do Nrf2.

Quando são utilizadas substâncias naturais indutoras do Nrf2, como o SFN, a curcumina, apigenina, entre outros, estes têm a capacidade de eliminar ROS potencialmente nocivas ao organismo. Isto é conseguido através do aumento da atividade de enzimas antioxidantes como a SOD, a CAT e a GSH peroxidase. Além disso, certos compostos aumentam os níveis de Nrf2 facilitando a sua translocação para o núcleo, o que permite que o Nrf2 regule a expressão de enzimas antioxidantes. Esta regulação desempenha um papel crucial no controlo do *stress* oxidativo. Ao melhorar a capacidade das células para eliminar as ROS, permite que as células resistam ao *stress* oxidativo, reduzindo potencialmente a ocorrência de apoptose. No entanto, estes compostos parecem desafiar a visão atual de fármacos. Normalmente o intuito passa por desenvolver compostos cada vez mais específicos, porém os compostos típicos que ativam o Nrf2 apresentam mecanismos de ação complexos que parecem interagir com múltiplos alvos.

As substâncias indutoras do Nrf2 podem dividir-se em duas grandes categorias com diferentes mecanismos de ação, agentes eletrofílicos e não eletrofílicos da via Keap1/Nrf2. A primeira categoria é constituída por compostos naturais que podem interagir diretamente com as cisteínas do Keap1 através de adição eletrofílica. Em alternativa, podem interagir indiretamente com o Nrf2 através de vias não específicas com atividade polifarmacológica,

como a alteração do estado redox celular, modulação das vias cinase e ainda, mais recentemente, a influência da regulação epigenética.

A segunda categoria é constituída por substâncias não reativas e altamente específicas que têm a capacidade de perturbar a via Keap1/Nrf2, no entanto deparam-se com maiores desafios na sua utilização em produtos cosméticos. Estes compostos são tipicamente sintéticos e, por isso, atualmente não estão de acordo com a preferência dos consumidores que valorizam a naturalidade nos produtos e ingredientes cosméticos. Além disso, uma vez que são frequentemente moléculas recentemente desenvolvidas, a avaliação da sua segurança para uso cosmético só pode ser realizada através de testes laboratoriais que podem originar, em determinados casos, falsos positivos. Ainda assim, as perspectivas de utilização dos modulares de Nrf2 com aplicação em dermatologia e cosmética permanecem bastante elevadas.

Têm sido desenvolvidos novos programas moleculares com o objetivo de descobrir novos compostos e identificar moléculas com potencial interesse na indução da via Nrf2 na pele com uma ação farmacológica específica, tal como modelos farmacóforos. Embora o desenvolvimento de moduladores Nrf2 seguros e inovadores para cuidados de pele apresente certos desafios, existem oportunidades promissoras na exploração da modelação molecular baseada em compostos naturais e na adoção de conceitos emergentes como a regulação epigenética.

## 6. Referências Bibliográficas

- (1). VINAY KUMAR, Abul Abbas, Jon C. Aster - **The Skin**. Em Robbins & Cottran - Pathologic Basis of Disease. 10th. ed.
- (2). KANG, Sewon *et al.* - **Developmental Biology of the Skin**. Em Fitzpatrick's Dermatology. 9th. ed. [S.l.]: Mcgraw-Hill, 2019v. 1.
- (3). KANG, Sewon *et al.* - **Basic Principles of Immunologic Diseases in Skin (Pathophysiology of Immunologic/Inflammatory Skin Diseases)**. Em Fitzpatrick's Dermatology. 9th. ed. [S.l.] : Mcgraw-Hill, 2019v. 1.
- (4). KANG, Sewon *et al.* - **Skin Barrier**. Em Fitzpatrick's Dermatology. 9th. ed. [S.l.] : Mcgraw-Hill, 2019v. 1.
- (5). HAMMER, Gary D.; MCPHEE, Stephen J. - **Diseases of the Skin**. Em Pathophysiology of Disease: An Introduction to Clinical Medicine. 7th. ed. [S.l.] : McGraw-Hill Professional, 2009
- (6). KRUTMANN, Jean *et al.* - **The skin aging exposome**. Journal of Dermatological Science. ISSN 1873569X. 85:3 (2017) 152–161. doi: 10.1016/j.jdermsci.2016.09.015.
- (7). SORE, Gabrielle; LYNCH, Stephen - **Skin Exposome**. Em Cosmetic's Dermatology: products and procedures. 3th. ed. [S.l.] : Wiley-Blackwell, 2021
- (8). PASSERON, T. *et al.* - **Clinical and biological impact of the exposome on the skin**. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. ISSN 14683083. 34:S4 (2020) 4–25. doi: 10.1111/jdv.16614.
- (9). MULLENDERS, Leon H. F. - **Solar UV damage to cellular DNA: From mechanisms to biological effects**. Photochemical and Photobiological Sciences. ISSN 14749092. 17:12 (2018) 1842–1852. doi: 10.1039/c8pp00182k.
- (10). SHIMIZU, Sunao *et al.* - **Association of single nucleotide polymorphisms in the NRF2 promoter with vascular stiffness with aging**. PLOS ONE. ISSN 19326203. 15:8 August (2020). doi: 10.1371/journal.pone.0236834.
- (11). YAMAMOTO, X. Masayuki; KENSLER, Thomas W.; MOTOHASHI, Hozumi - **THE KEAPI-NRF2 SYSTEM: A THIOL-BASED SENSOR-EFFECTOR APPARATUS FOR MAINTAINING REDOX HOMEOSTASIS**. Physiol Rev. 98:2018) 1169–1203. doi: 10.1152/physrev.00023.
- (12). KAHREMANY, Shirin *et al.* - **NRF2 in dermatological disorders: Pharmacological activation for protection against cutaneous photodamage and photodermatosis**. Free Radical Biology and Medicine. ISSN 18734596. 188:2022) 262–276. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2022.06.238.

- (13). KNATKO, Elena V. *et al.* - **Nrf2 activation protects against solar-simulated ultraviolet radiation in mice and humans.** *Cancer Prevention Research.* ISSN 19406215. 8:6 (2015) 475–486. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-14-0362.
- (14). CARRARA, Iriana Moratto *et al.* - **Looking beyond the skin: Cutaneous and systemic oxidative stress in UVB-induced squamous cell carcinoma in hairless mice.** *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* ISSN 18732682. 195:2019) 17–26. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2019.04.007.
- (15). HSEU, You Cheng *et al.* - **The in vitro and in vivo depigmenting activity of pterostilbene through induction of autophagy in melanocytes and inhibition of UVA-irradiated  $\alpha$ -MSH in keratinocytes via Nrf2-mediated antioxidant pathways.** *Redox Biology.* ISSN 22132317. 44:2021). doi: 10.1016/j.redox.2021.102007.
- (16). LIN, Xiran *et al.* - **Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) as a potential therapeutic target for vitiligo.** *Archives of Biochemistry and Biophysics.* ISSN 10960384. 696:2020). doi: 10.1016/j.abb.2020.108670.
- (17). ZHAI, Siyue *et al.* - **Successful Treatment of Vitiligo with Cold Atmospheric Plasma-Activated Hydrogel.** *Journal of Investigative Dermatology.* ISSN 15231747. 141:11 (2021) 2710-2719.e6. doi: 10.1016/j.jid.2021.04.019.
- (18). BOGAARD, Ellen H. VAN DEN *et al.* - **Coal tar induces AHR-dependent skin barrier repair in atopic dermatitis.** *Journal of Clinical Investigation.* ISSN 00219738. 123:2 (2013) 917–927. doi: 10.1172/JCI65642.
- (19). KOCH, Michael *et al.* - **Quantitative Proteomics Identifies Reduced NRF2 Activity and Mitochondrial Dysfunction in Atopic Dermatitis.** *Journal of Investigative Dermatology.* ISSN 15231747. 143:2 (2023) 220-231.e7. doi: 10.1016/j.jid.2022.08.048.
- (20). ETO, Hinako *et al.* - **Non-invasive evaluation of atopic dermatitis based on redox status using in vivo dynamic nuclear polarization magnetic resonance imaging.** *Free Radical Biology and Medicine.* ISSN 18734596. 103:2017) 209–215. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.043.
- (21). GITTNER, Julia K. *et al.* - **Progressive activation of TH2/TH22 cytokines and selective epidermal proteins characterizes acute and chronic atopic dermatitis.** *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* ISSN 00916749. 130:6 (2012) 1344–1354. doi: 10.1016/j.jaci.2012.07.012.
- (22). HIRAKAWA, Satoshi *et al.* - **Dual Oxidase 1 Induced by Th2 Cytokines Promotes STAT6 Phosphorylation via Oxidative Inactivation of Protein Tyrosine**

**Phosphatase 1B in Human Epidermal Keratinocytes.** The Journal of Immunology. ISSN 0022-1767. 186:8 (2011) 4762–4770. doi: 10.4049/jimmunol.1000791.

(23). BOGAARD, Ellen H. VAN DEN *et al.* - **Genetic and pharmacological analysis identifies a physiological role for the AHR in epidermal differentiation.** Journal of Investigative Dermatology. ISSN 15231747. 135:5 (2015) 1320–1328. doi: 10.1038/jid.2015.6.

(24). TAKEI, Kenjiro *et al.* - **Antioxidant soybean tar Glyteer rescues T-helper-mediated downregulation of filaggrin expression via aryl hydrocarbon receptor.** Journal of Dermatology. ISSN 13468138. 42:2 (2015) 171–180. doi: 10.1111/1346-8138.12717.

(25). SMITH, Susan H. *et al.* - **Tapinarof Is a Natural AhR Agonist that Resolves Skin Inflammation in Mice and Humans.** Journal of Investigative Dermatology. ISSN 15231747. 137:10 (2017) 2110–2119. doi: 10.1016/j.jid.2017.05.004.

(26). HASLAM, Iain S. *et al.* - **Oxidative Damage Control in a Human (Mini-) Organ: Nrf2 Activation Protects against Oxidative Stress-Induced Hair Growth Inhibition.** Journal of Investigative Dermatology. ISSN 15231747. 137:2 (2017) 295–304. doi: 10.1016/j.jid.2016.08.035.

(27). JEAYENG, Saowanee *et al.* - **Nrf2 in keratinocytes modulates UVB-induced DNA damage and apoptosis in melanocytes through MAPK signaling.** Free Radical Biology and Medicine. ISSN 18734596. 108:2017) 918–928. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.05.009.

(28). LA VEGA, Montserrat Rojo DE; ZHANG, Donna D.; WONDRAK, Georg T. - **Topical bixin confers NRF2-dependent protection against photodamage and hair graying in mouse skin.** Frontiers in Pharmacology. ISSN 16639812. 9:MAR (2018). doi: 10.3389/fphar.2018.00287.

(29). DINKOVA-KOSTOVA, Albena T. *et al.* - **KEAP1 and done? Targeting the NRF2 pathway with sulforaphane.** Trends in Food Science and Technology. ISSN 09242244. 69:2017) 257–269. doi: 10.1016/j.tifs.2017.02.002.

(30). PETKOVIC, Marija *et al.* - **Dietary supplementation with sulforaphane ameliorates skin aging through activation of the Keap1-Nrf2 pathway.** Journal of Nutritional Biochemistry. ISSN 18734847. 98:2021). doi: 10.1016/j.jnutbio.2021.108817.

(31). KERNS, Michelle L. *et al.* - **Reprogramming of keratin biosynthesis by sulforaphane restores skin integrity in epidermolysis bullosa simplex**

(32). FRANKLIN, Stephen J. *et al.* - **Stability of sulforaphane for topical formulation.** Drug Development and Industrial Pharmacy. ISSN 15205762. 40:4 (2014) 494–502. doi: 10.3109/03639045.2013.768634.

- (33). SHIN, Jun Wan *et al.* - **Curcumin induces stabilization of Nrf2 protein through Keap1 cysteine modification.** *Biochemical Pharmacology*. ISSN 18732968. 173:2020). doi: 10.1016/j.bcp.2020.113820.
- (34). TAVAKOL, Shima *et al.* - **The impact of the particle size of curcumin nanocarriers and the ethanol on beta<sub>1</sub>-integrin overexpression in fibroblasts: A regenerative pharmaceutical approach in skin repair and anti-aging formulations.** *DARU, Journal of Pharmaceutical Sciences*. ISSN 20082231. 27:1 (2019) 159–168. doi: 10.1007/s40199-019-00258-3.
- (35). LI, Huaping *et al.* - **Protective Effect of Curcumin Against Acute Ultraviolet B Irradiation-induced Photo-damage.** *Photochemistry and Photobiology*. ISSN 17511097. 92:6 (2016) 808–815. doi: 10.1111/php.12628.
- (36). WAGHULE, Tejashree *et al.* - **Emerging Trends in Topical Delivery of Curcumin Through Lipid Nanocarriers: Effectiveness in Skin Disorders.** *AAPS PharmSciTech*. ISSN 15309932. 21:7 (2020). doi: 10.1208/s12249-020-01831-9.
- (37). CAMPIONE, Elena *et al.* - **The Role of Glutathione-S Transferase in Psoriasis and Associated Comorbidities and the Effect of Dimethyl Fumarate in This Pathway.** *Frontiers in Medicine*. ISSN 2296858X. 9:2022). doi: 10.3389/fmed.2022.760852.
- (38). BRÜCK, Jürgen *et al.* - **A review of the mechanisms of action of dimethylfumarate in the treatment of psoriasis.** *Experimental Dermatology*. ISSN 16000625. 27:6 (2018) 611–624. doi: 10.1111/exd.13548.
- (39). YANG, Hsin Ling *et al.* - **Zerumbone protects human skin keratinocytes against UVA-irradiated damages through Nrf2 induction.** *Biochemical Pharmacology*. ISSN 18732968. 148:2018) 130–146. doi: 10.1016/j.bcp.2017.12.014.
- (40). LEE, Joohee *et al.* - **Tussilagonone Ameliorates Psoriatic Features in Keratinocytes and Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Lesions in Mice via NRF2 Activation.** *Journal of Investigative Dermatology*. ISSN 15231747. 140:6 (2020) 1223-1232.e4. doi: 10.1016/j.jid.2019.12.008.
- (41). YANG, Yuqing *et al.* - **DNA methylome and transcriptome alterations and cancer prevention by triterpenoid ursolic acid in UVB-induced skin tumor in mice.** *Molecular Carcinogenesis*. ISSN 10982744. 58:10 (2019) 1738–1753. doi: 10.1002/mc.23046.
- (42). YANG, Yuqing *et al.* - **Fucoxanthin Elicits Epigenetic Modifications, Nrf2 Activation and Blocking Transformation in Mouse Skin JB6 P+ Cells.** *AAPS Journal*. ISSN 15507416. 20:2 (2018). doi: 10.1208/s12248-018-0197-6.

- (43). ZHANG, Baoxiang *et al.* - **Apigenin protects human melanocytes against oxidative damage by activation of the Nrf2 pathway.** *Cell Stress and Chaperones*. ISSN 14661268. 25:2 (2020) 277–285. doi: 10.1007/s12192-020-01071-7.
- (44). HSEU, You Cheng *et al.* - **The in vitro and in vivo depigmenting activity of pterostilbene through induction of autophagy in melanocytes and inhibition of UVA-irradiated  $\alpha$ -MSH in keratinocytes via Nrf2-mediated antioxidant pathways.** *Redox Biology*. ISSN 22132317. 44:2021). doi: 10.1016/j.redox.2021.102007.
- (45). KARUPPAGOUNDER, Vengadeshprabhu *et al.* - **Modulation of HMGB1 translocation and RAGE/NF $\kappa$ B cascade by quercetin treatment mitigates atopic dermatitis in NC/Nga transgenic mice.** *Experimental Dermatology*. ISSN 16000625. 24:6 (2015) 418–423. doi: 10.1111/exd.12685.
- (46). **The Potential Uses of NAC in Dermatology- a Review** - [s.d.].
- (47). PAN, Xiaoqi *et al.* - **Acrylamide-induced oxidative stress and inflammatory response are alleviated by N-acetylcysteine in PC12 cells: Involvement of the crosstalk between Nrf2 and NF- $\kappa$ B pathways regulated by MAPKs.** *Toxicology Letters*. ISSN 18793169. 288:2018) 55–64. doi: 10.1016/j.toxlet.2018.02.002.
- (48). YILDIRIM BAŞ, Funda *et al.* - **Effect of alpha lipoic acid on smoking-induced skin damage.** *Cutaneous and Ocular Toxicology*. ISSN 15569535. 36:1 (2017) 67–73. doi: 10.3109/15569527.2016.1154069.
- (49). CAMPOS, Patrícia Mazureki *et al.* - **Liquid crystalline nanodispersion functionalized with cell-penetrating peptides improves skin penetration and anti-inflammatory effect of lipoic acid after in vivo skin exposure to UVB radiation.** *Drug Delivery and Translational Research*. ISSN 21903948. 10:6 (2020) 1810–1828. doi: 10.1007/s13346-020-00840-2.
- (50). FRANTZ, Marie Céline; ROZOT, Roger; MARROT, Laurent - **NRF2 in dermo-cosmetic: From scientific knowledge to skin care products.** *BioFactors*. ISSN 18728081. 49:1 (2023) 32–61. doi: 10.1002/biof.1907.
- (51). BHATTACHARJEE, Shamee; DASHWOOD, Roderick H. - **Epigenetic regulation of NRF2/KEAP1 by phytochemicals.** *Antioxidants*. ISSN 20763921. 9:9 (2020) 1–22. doi: 10.3390/antiox9090865.