

Sara Martinho Gonçalves de Sousa Rio

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O Uso de Oligonucleótidos *Antisense* em Doenças Neurodegenerativas” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, da Doutora Marília João Rocha, da Dra. Cidália Roxo e da Professora Doutora Ana Cristina Rama e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Julho 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Capa disponível em: <https://commonfund.nih.gov/4dnucleome/highlights>

Sara Martinho Gonçalves de Sousa Rio

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O Uso de Oligonucleótidos *Antisense* em Doenças Neurodegenerativas” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, da Doutora Marília João Rocha, da Dra. Cidália Roxo e da Professora Doutora Ana Cristina Rama e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Julho 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Sara Martinho Gonçalves de Sousa Rio, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2011153597, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “O Uso de Oligonucleótidos *Antisense* em Doenças Neurodegenerativas” 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, 12 de julho de 2018.

Assinatura

SARA RIO

Agradecimentos

À Professora Doutora Ana Cristina Rama, minha orientadora, cuja disponibilidade, ajuda e entusiasmo foram essenciais à elaboração deste trabalho, o meu sincero obrigada.

À Dr.ª Ana Cristina Pimentel, Diretora Técnica da Farmácia São Sebastião, à Dr.ª Cidália Roxo, Farmacêutica Substituta e minha orientadora de estágio, e restante equipa da Farmácia São Sebastião, o meu agradecimento, pela forma como me acolheram e pelo constante acompanhamento, apoio e disponibilidade, que tanto contribuíram para o sucesso desta etapa.

À Professora Doutora Marília João Rocha, minha orientadora de estágio no Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, pela forma cuidadosa e pensada como coordena o Estágio em Farmácia Hospitalar. Muito obrigada pela oportunidade e confiança depositada. À Dr.ª Isabel Campelo, que me acompanhou no dia-a-dia do Hospital, e despertou o meu interesse por esta temática.

À Universidade de Coimbra, e em particular à minha faculdade, a Faculdade de Farmácia, a todas as minhas Professoras e Professores, funcionários e colaboradores desta instituição.

Às minhas amigas e amigos de toda uma vida, mas também àqueles e aquelas, como a Maria Neto, que só conheci na Faculdade, mas que fazem hoje parte desta “família” que escolhi.

À minha querida Tiz, amiga e companheira desde a infância, de todas as Escolas, e até de Curso! E à Lai, pela forma tão incondicional com que, hoje e sempre, transmitem a sua amizade.

A toda a minha família, em especial à minha Mãe, ao meu Pai, e à minha querida irmã, por estarem sempre ao meu lado e do meu lado.

*Aos meus Avós, em especial à Avó Maria Flor, minha farmacêutica preferida, que espero
fazer sentir orgulhosa.*

Índice

Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária.....	7
Lista de abreviaturas	8
1. Introdução	9
1.1. Contextualização da Farmácia São Sebastião	9
2. Análise SWOT	10
2.1. Pontos Fortes.....	11
2.2. Pontos Fracos	15
2.3. Oportunidades.....	18
2.4. Ameaças	22
3. Conclusão	23
Bibliografia.....	24
Anexos.....	26
Parte II – Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar	28
Lista de abreviaturas	29
1. Introdução	30
1.1. Farmácia Hospitalar	30
2. Análise SWOT	32
2.1. Pontos Fortes.....	33
2.2. Pontos Fracos	35
2.3. Oportunidades.....	36
2.4. Ameaças	38
3. Conclusão	39
Bibliografia.....	40
Anexos.....	42
Parte III – O uso de oligonucleótidos antisense em doenças neurodegenerativas.	
Enfoque na Atrofia Muscular Espinhal.	53
Resumo.....	54
Abstract	55
Lista de abreviaturas	56
Introdução	57
Objetivos.....	59
Métodos.....	60
Resultados.....	60

1. Oligonucleótidos <i>antisense</i>: do passado ao presente.....	60
1.1. Modificações estruturais.....	61
1.1.1. Primeira geração de oligonucleótidos <i>antisense</i>	61
1.1.2. Segunda geração de oligonucleótidos <i>antisense</i>	62
1.1.3. Terceira geração de oligonucleótidos <i>antisense</i>	63
1.2. Mecanismos de ação dos oligonucleótidos <i>antisense</i>	63
1.2.1. Degradação mediada pela RNase-H	63
1.2.2. Impedimento estérico.....	64
1.3. Biodisponibilidade e <i>uptake</i> dos AONs.....	65
2. Doenças Neurodegenerativas	67
2.1. Atrofia Muscular Espinhal.....	68
2.1.1. Classificação e Descrição Clínica	68
2.1.2. Mecanismo genético da AME	69
2.1.3. Funções celulares da proteína SMN	71
2.1.4. Diagnóstico.....	72
3. Tratamento	74
3.1. Descoberta do Silenciador Intrónico do Splicing NI como alvo terapêutico.....	75
3.2. Desenvolvimento clínico.....	76
3.3. Aprovação do <i>nusinersen</i>	78
4. Perspetiva futura e considerações finais	79
Anexos.....	82
Bibliografia.....	83

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de abreviaturas

ANF – Associação Nacional de Farmácias

DCI – Denominação Comum Internacional

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

MSRM – Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

SNS – Serviço Nacional de Saúde

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*

I. Introdução

O plano curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), prevê que o segundo semestre do último ano seja dedicado à realização do Estágio Curricular sendo indispensável, e obrigatório, que parte deste seja realizado em Farmácia Comunitária.

É precisamente nestas farmácias que o Farmacêutico encontra maior contacto com o doente, o que lhe permite estabelecer relações de confiança e proximidade, e assim ter um papel fundamental na promoção do uso racional dos medicamentos, bem-estar e saúde da população em geral, bem como uma participação ativa no fomento da educação para esta área.

Este estágio tem como objetivo proporcionar-nos um primeiro contacto com o mercado de trabalho, permitindo ainda colocar em prática os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do MICF, no sentido de promover a melhor preparação possível para aquele que é um ramo essencial e indispensável, embora muitas vezes desvalorizado, das Ciências Farmacêuticas.

Pessoalmente, optei por realizar o meu estágio em Coimbra, na Farmácia São Sebastião. Esta farmácia funciona sob a direção técnica da Dr.^a Ana Cristina Pimentel, e a sua equipa é constituída inteiramente por farmacêuticos: a Dr.^a Cidália Roxo, na qualidade de Farmacêutica Substituta, a Dr.^a Ana Patrícia Faria e o Dr. João Pinto.

No decorrer dos quatro meses do estágio, que teve início a 11 de setembro de 2017 e terminou no dia 30 de dezembro desse mesmo ano, tive o privilégio de ser orientada pela Dr.^a Cidália Roxo, sempre com a colaboração e constante apoio e disponibilidade de toda a equipa.

O presente relatório segue a forma de uma análise SWOT, destacando então os pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças encontradas ao longo do estágio.

I.1. Contextualização da Farmácia São Sebastião

A Farmácia São Sebastião iniciou a sua atividade na Rua António Jardim, no Bairro São Sebastião, advindo daí o seu nome.

Desde outubro de 2007 que se situa na Avenida Elísio de Moura, uma zona residencial da cidade de Coimbra. (Anexo I)

Esta mudança de localização, não só lhe permitiu manter a grande maioria dos seus utentes, pela proximidade ao Bairro São Sebastião, como também, servir uma população mais abrangente e heterogénea. Apesar dos utentes habituais serem predominantemente

idosos, é também muito frequente a sua procura por famílias com bebés e crianças pequenas, donos de animais domésticos e, em geral, um público mais jovem. Pela sua proximidade com o “Farol”, Centro de Acolhimento de sem-abrigos e toxicodependentes, estes eram também utilizadores da Farmácia.

A diversidade de utentes que frequentam a Farmácia proporcionou-me uma enorme variedade de experiências, tendo tido contacto com várias realidades diferentes, que me fizeram melhor compreender como adequar a interação e aconselhamento a cada utente.

2. Análise SWOT

Pontos Fortes

- Equipa
- Farmácia familiar – proximidade com o utente e aconselhamento farmacêutico
- Organização do estágio
- Gestão de *stock*
- Medição de parâmetros bioquímicos
- Serviço de preparação individual da medicação
- Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM)

Pontos Fracos

- Receitas em Papel
- Regimes Excepcionais de Comparticipação
- Dificuldade de associação entre Denominação Comum Internacional (DCI) e Nome Comercial
- Área de puericultura e maternidade

Oportunidades

- Receituário
- Atividades de gestão e de *marketing*
- Preparação de medicamentos manipulados
- Dermofarmácia e Cosmética
- Veterinária
- *Roadshow* da SIC
- Formações

Ameaças

- Facilidade de acesso à informação
- Resistência inicial por parte do utente

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Equipa

A equipa da Farmácia São Sebastião é, indiscutivelmente, o ponto forte que mais pesou no meu estágio.

Acredito que, enquanto estudante, o primeiro contacto com aquela que poderá vir a ser a minha realidade profissional é um marco determinante, e o privilégio de ter podido contactar com uma equipa unida, profissional e muito dedicada ao utente, que me ensinou, pelo exemplo, como ser um bom farmacêutico foi, para mim, uma enorme mais-valia.

Ao longo do estágio senti que todos contribuíram muitíssimo para a minha formação, tendo estado sempre disponíveis para esclarecer dúvidas, dar apoio no desempenho das tarefas e transmitirem-me a confiança necessária para que pudesse adquirir autonomia e assim crescer, não só a nível profissional como a nível pessoal.

Não tenho qualquer dúvida de que foi todo o apoio e amabilidade com que me receberam o que mais contribuiu para que o balanço final destes quatro meses, na Farmácia São Sebastião, tenha sido extremamente positivo.

2.1.2. Proximidade ao utente e aconselhamento farmacêutico

Por se localizar numa zona residencial, os utentes da Farmácia São Sebastião são, efetivamente, utentes que se encontram já fidelizados à Farmácia, que a procuram sempre que necessitam de alguma medicação ou aconselhamento. Este fator revelou-se como um ponto forte, no sentido em que permite um acompanhamento mais próximo. A Farmácia possui a ficha de cliente, constantemente atualizada com notas e observações, parâmetros bioquímicos do utente e aspetos a ter em atenção, assim como todo o histórico da sua medicação. Este registo permite mais facilmente fazer um aconselhamento correto e personalizado, estando assim o farmacêutico na posse de informação imprescindível para a promoção do uso correto da terapêutica, permitindo também uma fácil deteção de possíveis erros na prescrição, prevenir interações e monitorizar a adesão à terapêutica.

Na minha opinião, a Farmácia Comunitária tem um papel fundamental para o correto funcionamento do Serviço Nacional de Saúde (SNS), pela sua posição privilegiada de proximidade com o utente, cabendo-lhe aliviar a sobrecarga dos Centros de Saúde e Hospitais, no caso de situações que podem aqui ser facilmente resolvidas.¹ Na Farmácia São Sebastião, tive oportunidade de constatar que é isto que acontece. Os utentes desta

farmácia, têm total confiança nos profissionais de saúde que nela trabalham, e, muitas vezes, dirigem-se em primeiro lugar à farmácia, em busca de aconselhamento.

2.1.3. Organização do estágio

Um dos pontos fortes do estágio, foi, para mim, a sua organização e a forma lógica e pensada como decorreu.

A primeira tarefa realizada foi dar entrada das encomendas que diariamente chegavam à farmácia, normalmente, três vezes por dia, sendo uma da parte da manhã, outra por volta das 15 horas e a última cerca das 18 horas. Durante este processo, tinha oportunidade de me familiarizar com os diferentes produtos que fazem parte do stock da farmácia, sendo incentivada a, por cada encomenda, selecionar alguns que me fossem desconhecidos e fazer uma rápida pesquisa sobre os mesmos, tarefa essencial para que começasse a ter um conhecimento mais alargado dos medicamentos e produtos que me viriam a ser solicitados quando passasse à fase do atendimento ao público.

Da execução desta tarefa adveio também uma consciencialização dos custos de aquisição dos diferentes produtos, das margens aplicadas aos medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) aos quais cabe à farmácia decidir o preço de venda e das diferenças de preço entre vários genéricos e o medicamento original. Além disso, prestava especial atenção ao prazo de validade, atualizando no sistema informático sempre que o produto que dava entrada tivesse um prazo de validade inferior àquele que já se encontrava em stock, a fim de evitar erros, e também ao número de embalagens que chegavam comparativamente àqueles que constavam na nota de encomenda. Posto isto, os produtos eram então arrumados em gavetas ordenadas por ordem alfabética, no caso dos Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM) ou nos seus respetivos locais – prateleiras, gavetas no balcão, expositores – conforme o produto de que se tratasse, respeitando sempre a regra de *First In, First Out*, para que os produtos com menor prazo de validade fossem vendidos em primeiro lugar.

O passo seguinte foi começar a acompanhar o atendimento prestado pelos farmacêuticos. Nesta fase observava atentamente os passos que constituíam o atendimento, as questões que eram importantes colocar ao utente para garantir o melhor aconselhamento possível e assegurar que “o utente não tem dúvidas sobre a ação do medicamento, a forma como deve ser tomado (como, quando, quanto), a duração do tratamento e possíveis efeitos secundários, contra-indicações e interações”.² Tive também oportunidade de me familiarizar com o funcionamento do sistema informático SIFARMA 2000® e comecei então, eu própria,

a realizar o atendimento, sempre acompanhada, até adquirir autonomia e confiança necessária para que o pudesse fazer de forma independente, tendo sempre à disposição a equipa para auxiliar em questões para as quais não me sentisse tão à-vontade, ou dúvidas que precisasse de esclarecer.

Gostava ainda de salientar que, mesmo chegando à fase do atendimento ao público já de forma autónoma, não deixei de realizar outras tarefas como a entrada das encomendas, arrumação dos produtos e conferência dos prazos de validade, algo que considero da maior importância por achar que é uma mais-valia estar envolvida em todos os processos, desde a chegada dos produtos à sua saída, proporcionando uma visão mais ampla daquela que é a dinâmica de uma Farmácia Comunitária que, como sabemos, se estende muito além da simples cedência de medicamentos.

2.1.4. Gestão de Stock

Como tive a oportunidade de aprender na unidade curricular de Organização e Gestão Farmacêutica, a gestão de *stock* de uma farmácia é um processo altamente complexo, que pode mesmo ditar que esta seja, ou não, bem-sucedida, exigindo assim uma avaliação crítica e experiência para que sejam tomadas as melhores decisões.

Ao longo do estágio confirmei, pela prática quotidiana, que um bom *stock* não é sinónimo de uma enorme variedade de referências, mas sim um *stock* adequado à população-alvo da farmácia e às suas necessidades, permitindo à farmácia maior rotatividade de produtos, evitar gastos desnecessários e otimizar os seus recursos. É, assim, imprescindível que, para cada produto, seja estabelecido o seu *stock* mínimo e máximo, e que este seja constantemente reanalisado, quer pela sazonalidade dos produtos, quer pela introdução no mercado de outros produtos que os venham substituir, ou simples diminuição na procura de certas referências.

Por ser um fator importantíssimo da dinâmica quotidiana de uma Farmácia Comunitária, considero um ponto forte do meu estágio o contacto com esta atividade de *back-office*, que me permitiu então melhor compreender os aspetos fundamentais de uma correta gestão de *stock*.

2.1.5. Medição de parâmetros bioquímicos

Hoje em dia é muito amplo o espectro de atividades desenvolvidas em Farmácia Comunitária. Além de especialista do medicamento, o Farmacêutico tem uma posição

privilegiada junto do doente, sendo também responsável pela implementação de estilos de vida saudáveis, identificação de fatores de risco e deteção precoce de algumas doenças.¹ Neste sentido, a Farmácia São Sebastião disponibiliza aos seus utentes, o serviço de medição de parâmetros bioquímicos, nomeadamente da glicémia, colesterol total, pressão arterial, triglicéridos e ainda uma balança para o controlo do peso e Índice de Massa Corporal.

Por ser uma farmácia familiar, verifiquei que muitos utentes utilizam estes serviços, estando sensibilizados, e muito bem, pela equipa, para a necessidade de controlarem estes fatores, e que procuram efetivamente o aconselhamento do Farmacêutico nesta problemática. Muitas vezes, tive eu própria a oportunidade de realizar as medições, principalmente quando a Farmácia completou o seu 10º aniversário na Avenida Elísio de Moura, semana em que foi promovida gratuitamente a avaliação do risco cardiovascular.

Sinto que esta tarefa me permitiu uma grande proximidade com os utentes, dando lugar a um aconselhamento mais personalizado, sugestão de alteração de alguns hábitos menos saudáveis e, muitas vezes, avaliação da adequação da terapêutica instituída e da sua adesão.

2.1.6. Serviço de preparação individual da medicação

Como já referi, os utentes da Farmácia São Sebastião são, na sua maioria, idosos, muitas vezes polimedicados, requerendo especial cuidado não só na transmissão da informação como na garantia de que esta foi compreendida e bem assimilada.²

A Farmácia São Sebastião disponibiliza, por isso, um serviço de preparação individual da medicação, serviço este em que o utente traz os seus medicamentos à farmácia, que depois os organiza, por dia da semana, segundo a posologia adequada, garantindo assim que cada um é tomado na dose certa, à hora certa. Pelo elevado número de comprimidos que tomam diariamente, com diferentes esquemas posológicos, e a agravante de estas pessoas terem, por vezes, dificuldade em distinguir os diferentes medicamentos, parece-me, esta iniciativa, da maior importância, no sentido de promover o uso racional do medicamento, melhorar a adesão à terapêutica e evitar trocas e esquecimentos da medicação.

2.1.7. Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM)

Enquanto que os MSRM são requisitados por indicação e prescrição médica, limitando por vezes o lugar à intervenção farmacêutica, é nos MNSRM que a sua ação é mais determinante e solicitada.

Assim, e no sentido de me preparar para o atendimento ao público, fui encorajada ao longo das primeiras semanas de estágio, a explorar os diferentes MNSRM da Farmácia. Selecionando um grupo, por exemplo, pastilhas para a garganta, procurava então explorar e compreender as diferenças entre cada uma das referências disponíveis para que pudesse melhor adequá-las a cada situação. Neste caso em particular, seria necessário inquirir ao doente se tem inflamação, dificuldade ao engolir ou apenas alguma irritação, diferenciando assim entre a necessidade de uma ação anti-inflamatória, caso em que poderia ser aconselhado *Mebocáina*[®] *Anti-Inflam*, ou uma ação suavizante no sentido de aliviar a irritação, conseguido, por exemplo com *MeboProtect*^{®.3} É também imprescindível perguntar ao utente se apresenta outros sintomas, há quanto tempo é que estes perduram, e se faz mais alguma medicação.

O estudo dos MNSRM ajudou-me muito, permitindo-me ganhar confiança e autonomia, e assim sentir-me segura da informação que prestava ao utente.

Como estagiária, considero que este é um dos pontos mais gratificantes: sentirmo-nos capazes, úteis e com ação na saúde e bem-estar do doente, ao proporcionar-lhe o uso adequado e seguro de medicamentos.

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. Receitas manuais

Com a implementação da obrigatoriedade das receitas desmaterializadas instituída a 1 de abril de 2016 são cada vez menos as receitas manuais que chegam a farmácia, sendo estas apenas utilizadas em exceções previstas na lei, como falência do sistema informático, consultas ao domicílio ou inadaptação do prescriptor, podendo ainda este utilizar as receitas em papel até um máximo de 40 receitas por mês.^{4,5}

Esta medida apresenta inúmeras vantagens, tanto para o farmacêutico como para o utente, na medida em que simplifica os passos necessários à cedência, permitindo ainda um maior controlo e diminuição do erro.

No entanto, do ponto de vista do meu estágio, por falta de contacto com as receitas manuais e talvez alguma habituação à maior simplicidade proporcionada pelas receitas eletrónicas, senti particular dificuldade quando aparecia uma destas receitas.

Nestes casos, além da informação a validar comum às receitas eletrónicas, como os dados do utente, a identificação do prescriptor e da entidade financeira responsável, são ainda vários os fatores a que é necessário atentar, no que respeita à correta aplicação das normas

de prescrição, nomeadamente o número de embalagens prescritas - que nas receitas manuais não pode exceder um total de 4, sendo permitidas no máximo 2 por medicamento - se está devidamente datada, assinada e contém a vinheta, se foi assinalada a exceção pela qual o médico utilizou este sistema, entre outros, sendo que as inconformidades que não sejam detetadas podem levar à não comparticipação da receita.⁵ Além disso, nas receitas eletrónicas os medicamentos são prescritos por códigos, e o próprio sistema só nos deixa selecionar um produto que corresponda ao que está prescrito, ao passo que, nas receitas manuais é mais fácil cometer erros como, por exemplo, dispensar uma caixa de um medicamento com número de comprimidos diferente do que seria previsto. Assim, a necessidade de prestar atenção a todos estes fatores e estar simultaneamente focada no utente foi algo que, inicialmente, causou algum nervosismo.

Apesar das bases adquiridas na unidade curricular de Deontologia e Legislação Farmacêutica, este processo requer uma vertente prática para ser interiorizado e assim realizado com maior destreza.

2.2.2. Regimes excepcionais de comparticipação

Os regimes excepcionais de comparticipação visam a maior comparticipação de medicamentos específicos, para certos grupos de doentes, em casos de doença prolongada, nomeadamente a doença de Alzheimer, lúpus e psoríase. A aplicação destes regimes obriga a condições específicas na prescrição, sendo aqui necessário que o farmacêutico tenha conhecimento das imposições legais pelas quais se regem estes sistemas, uma vez que o regime que regula essa comparticipação deve ser aplicado manualmente no momento da cedência.⁶

Como exemplo, no caso do Priadel[®], carbonato de lítio, utilizado no tratamento da psicose maníaco-depressiva, quando prescrito pelo médico especialista, neste caso o psiquiatra ou neurologista, tem uma comparticipação de 100%, sendo então gratuito para o doente. No entanto, para que isto se verifique, é obrigatório que o médico prescriptor faça menção ao Despacho 21094/99, de 14 de setembro, na receita.^{6,7}

Não sendo esta uma realidade com a qual tenha tido contacto anteriormente, não estava ciente destas condições de prescrição específicas nem sensibilizada para a sua verificação.

Detetada esta fragilidade, foi-me fornecido o material necessário para que pudesse tomar consciência dos despachos legais e sistemas de comparticipação existentes, informação que pude consolidar ao longo do estágio.

Achei da maior importância que, apesar da facilidade proporcionada pela crescente automatização do sistema, me fosse inculcadas as normas que lhe estão subjacentes e as quais, como futura farmacêutica, tenho obrigação de ter em atenção.

2.2.3. Dificuldade de associação entre Denominação Comum Internacional (DCI) e Nome Comercial

Atualmente, é de carácter obrigatório a prescrição por DCI, estando a prescrição por marca reservada a medicamentos com estreita margem terapêutica, reação adversa a um medicamento com a mesma substância ativa ou continuidade de tratamento superior a 28 dias.⁵

Apesar desta medida, com vista à uniformização das prescrições, foram várias as situações ao longo do estágio em que senti como ponto fraco a dificuldade em associar a substância ativa ao nome comercial. A quota de genéricos em Portugal tem vindo, realmente, a aumentar, tendo mesmo atingido valores recorde em 2017, com uma quota de 47,8%.⁸ Ainda assim, são muitos os utentes que se referem aos medicamentos pelo seu nome comercial, causando alguns constrangimentos durante o atendimento, por não identificar imediatamente de que substância ativa se tratava, ou até mesmo se esta era, ou não, sujeita a receita médica.

É um facto que, este é um ponto que vai sendo ultrapassado pelo constante contacto com os nomes comerciais na farmácia, pelo que me pareceria uma mais-valia haver maior familiarização com estes ao longo do curso, de forma a facilitar a sua associação desde a fase inicial.

2.2.4. Área de puericultura e maternidade

Com o crescente aumento da esperança média de vida e prevalência de uma população envelhecida, é evidente que, a maioria das iniciativas em saúde, nomeadamente ao nível da Farmácia Comunitária, são direccionadas para o idoso. (Anexo 2)

No entanto, considero que, por todas as suas particularidades, a puericultura e maternidade, merecem especial atenção. Desde os diferentes tipos de leite para bebés, biberões, bombas de extração de leite e até mesmo cuidados estéticos a ter ao longo da gravidez, nomeadamente os cremes anti-estrias, todos representam fatores que carecem de aconselhamento, e nos quais o farmacêutico pode ter uma ação determinante.

Na minha opinião, o farmacêutico deve fazer-se destacar como uma figura de confiança, com capacidade para oferecer um aconselhamento adequado e dar resposta às principais preocupações, próprias desta fase, também tão importante e de enorme responsabilidade, na vida dos seus utentes.

A falta de conhecimento nesta área e conseqüente dificuldade de prestação de conselhos, demonstrou-se assim um ponto fraco do meu estágio.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Receituário

A conferência do receituário é uma tarefa complexa e de elevada responsabilidade, que consiste na verificação das receitas médicas para que possa ocorrer a sua comparticipação.

Este processo ocorre diariamente, sendo que, ao longo do dia, no tempo disponível, as receitas vão sendo reanalisadas conferindo, então, se obedecem às regras de prescrição previstas na lei. Durante esta tarefa, e mesmo que a cedência não tivesse sido realizada por mim, era-me sempre chamada a atenção para situações especiais que fossem aparecendo, como certos despachos legais menos comumente referidos, ou sistemas especiais de comparticipação, para que fosse estando familiarizada com a complexidade deste procedimento.

Verificada a validade das receitas, estas são separadas por organismos, formando lotes de 30. No final de cada mês são fechados os lotes e é impresso o verbete de identificação que envolve as receitas, bem como o resumo de lotes e a respetiva fatura, procedendo-se ao seu envio para o Centro de Conferência do Receituário, no caso das receitas comparticipadas pelo SNS, ou para a Associação Nacional de Farmácias (ANF), aquelas que dizem respeito a outros organismos.

Durante o estágio tive a oportunidade de acompanhar e participar neste processo, que me permitiu, não só, tomar conhecimento das imposições legais que regem a comparticipação das receitas médicas, como melhor compreender a responsabilidade associada à verificação do seu cumprimento.

2.3.2. Atividades de Gestão e Marketing

Como sabemos, a Farmácia Comunitária é muito mais que um simples espaço de vendas e cedência de medicamentos. No entanto, esta não deixa de ser uma vertente importante da sua existência, ainda mais, face à conjuntura atual e crescente competitividade de outros espaços como as parafarmácias e grandes superfícies. Assim, considero da maior importância que, aliada a ferramentas de *marketing* e sempre preservando a sua integridade, a farmácia procure encontrar estratégias que lhe permitam reforçar a sua posição junto do consumidor.

Neste âmbito, tive a oportunidade de colocar em prática conceitos abordados nas cadeiras de Comunicação e *Marketing* Farmacêutico e Organização e Gestão Farmacêutica, em atividades como a alteração da disposição dos lineares por forma a destacar produtos pela sua sazonalidade, como por exemplo, os antigripais na altura da gripe ou produtos capilares destinados a prevenção da queda de cabelo, mais evidente no Outono. Também a utilização da página de *Facebook* da Farmácia utilizada de forma a publicitar certos produtos ou campanhas, apelando assim a um público cada vez mais orientado para as novas tecnologias, me parece uma forma de a Farmácia se manter atual e próxima dos seus utentes, necessidade urgente nos dias de hoje.

Como curiosidade, e complementar à minha atividade mais diretamente ligada a este estágio, apreciei a oportunidade de decorar a montra da farmácia na altura do Natal.

2.3.3. Preparação de Manipulados

A preparação de medicamentos manipulados em Farmácia Comunitária representa aquela que foi, durante muitos anos, a sua principal função. Apesar de ter caído um pouco em desuso, esta continua a ser uma das áreas em que a Farmácia São Sebastião se destaca.

A Farmácia tem um laboratório, equipado com todo o material necessário, onde, sob orientação da Dr.^a Cidália Roxo, responsável pela sua preparação, se preparam os mais diversos medicamentos manipulados, sempre com respeito pelas Boas Práticas de Preparação de Manipulados, garantido assim a sua qualidade.¹⁰

Ao longo do estágio tive oportunidade de contactar com esta vertente da Farmácia, tendo não só participado ativamente na sua preparação e cálculos necessários, como também em todos os processos que lhe são inerentes, nomeadamente, encomenda e receção de matérias-primas, execução dos rótulos e determinação dos custos, que em

conformidade com a Portaria n.º 769/2004, de 1 de julho, reflete o valor dos honorários da preparação, o preço das matérias-primas e dos materiais de embalagem.

2.3.4. Dermofarmácia e Cosmética

Sendo a farmácia um espaço dedicado à saúde e bem-estar pessoal, é também parte integrante da sua atividade, a promoção e aconselhamento ao nível de cuidados da pele e cabelo, primariamente por questões de saúde, mas também pela forte aposta que coloca nas questões estéticas. A farmácia é efetivamente uma referência nesta área, procurada por este tipo de produtos e principalmente pelo seu aconselhamento por parte de profissionais, altamente qualificados, conhecedores das suas propriedades, e com capacidade para os adequar a cada situação.

Apesar de não ser uma farmácia de grandes dimensões, a Farmácia São Sebastião, apresenta um *lay-out* atrativo, com bastante destaque para esta área, tornando a sua compra mais apelativa. Além disso, comercializa marcas como Avène®, La Roche Posay®, Uriage® e Caudalie®, consideradas referências internacionais em termos de qualidade de produtos de dermo-cosmética.

Destaco também que a farmácia comercializa a primeira marca nacional exclusiva para homem, de venda apenas em farmácias, a Papillon®. Considero que a oportunidade de ter tido formação, por parte da própria marca, não só sobre os seus produtos, como do *marketing* e estratégia de venda adequada ao público-alvo masculino, tantas vezes desvalorizado na área da cosmética e cuidados capilares, foi extremamente interessante e enriquecedora.

2.3.5. Veterinária

Por se localizar numa zona residencial, era frequente a procura por produtos de uso veterinário para animais domésticos, na Farmácia São Sebastião, permitindo maior familiarização com esta área e também um primeiro contacto com as receitas veterinárias.

Apesar desta oportunidade de consolidar alguns conhecimentos adquiridos na unidade curricular de Preparações de Uso Veterinário e de alargar as minhas bases nesta área, saliento, ainda assim, que é uma área na qual senti algumas fragilidades e na qual não estou completamente à-vontade para prestar um aconselhamento de qualidade, de forma autónoma.

2.3.6. Roadshow da SIC

O Roadshow da SIC “Digressão SIC de todos nós”, foi uma iniciativa do canal SIC, que teve lugar na Praça 8 de Maio, no dia 29 de setembro de 2017, e que, em parceria com a ANF, solicitou a participação das Farmácias de Coimbra neste evento. A Farmácia São Sebastião disponibilizou-se para estar presente, levando vários materiais informativos, amostras de dermocosmética e veterinária, assim como material necessário à medição de parâmetros bioquímicos.

Destaco este evento como uma oportunidade, não só pelo seu carácter único, mas por ter reafirmado em mim o papel do Farmacêutico junto da comunidade. Foram, de facto, e para minha surpresa, muitas as pessoas que, aproveitando a disponibilidade e descontração ali proporcionada, procuraram o “stand” da Farmácia com intenção de medir a glicémia, colesterol e pressão arterial, ou mesmo esclarecer dúvidas e pedir informações, o que se revelou muito gratificante. (Anexo 3)

2.3.7. Formações

Numa área sujeita a constantes mudanças e novidades, entrada de novos produtos no mercado e avanços científicos no âmbito da Saúde, é imperativo para o desempenhar da sua atividade que o Farmacêutico se mantenha atualizado.

A oportunidade de participar em várias formações destacou-se, então, como uma ferramenta de grande importância, sendo estas normalmente de duração curta e bastante objetivas, focadas em problemáticas atuais, como a polimedicação no idoso e o “Atendimento e Fidelização do Utente” (Anexo 4), permitindo não só tomar conhecimento de novos produtos e conceitos, como consolidar e melhor compreender a aplicabilidade prática de outros já adquiridos ao longo do MIFC.

2.4. Ameaças

2.4.1. Facilidade de acesso à informação

Numa era cada vez mais digital, é óbvia a facilidade com que conseguimos aceder à mais variada informação. Embora possa ser visto como uma grande mais-valia, este fator torna-se mesmo perigoso quando a informação não seja fidedigna ou possa ser mal interpretada, especialmente na área da saúde. Este fácil acesso à informação leva, muitas vezes, à criação de preconceitos e estereótipos, que por vezes dificultam a forma como o utente recebe o esclarecimento prestado pelo Farmacêutico.

Na minha opinião, cabe ao Farmacêutico desmistificar certos assuntos, promovendo a educação para a saúde, e assim munir o utente das ferramentas necessárias para que possa estar corretamente informado e participar ativamente na gestão da sua saúde.

2.4.2. Resistência inicial por parte do utente

Na Farmácia São Sebastião é notória a relação de proximidade que existe entre a equipa e os utentes. Toda a equipa está presente praticamente desde o seu início, na Avenida Elísio de Moura, constituindo já uma referência no seu bem-estar e saúde, para aqueles que a frequentam mais habitualmente.

Como estagiária senti, pontualmente, alguma resistência por parte dos utentes em serem atendidos por alguém que não lhes era ainda familiar, mostrando alguma relutância em partilhar as suas preocupações ou aceitar o aconselhamento por mim prestado.

De salientar, que toda a equipa fez por fortalecer a confiança do utente, reforçando a informação por mim fornecida e assim contribuir para que esta situação fosse sendo progressivamente ultrapassada.

Devo referir, que é extremamente satisfatório sentir a mudança de atitude do utente, ultrapassada a insegurança inicial e, assim, adquirida uma maior confiança, quando nas visitas posteriores à Farmácia é o próprio que vem ao nosso encontro e procura a nossa colaboração.

3. Conclusão

Concluídos os quatro meses de estágio na Farmácia São Sebastião, posso afirmar que esta foi, sem dúvida, uma experiência de aprendizagem extremamente enriquecedora que terá sempre um lugar especial no meu percurso profissional.

Estes quatro meses não só foram uma oportunidade de crescer a nível técnico-científico – permitindo-me aplicar e consolidar conhecimentos alcançados ao longo do curso e adquirir competências práticas por forma a ultrapassar os desafios do quotidiano da farmácia – como me permitiu desenvolver capacidades pessoais de interação e comunicação, fundamentais a uma profissão com uma vertente tão marcadamente humana e próxima do utente, como é a do Farmacêutico Comunitário.

De facto, poder presenciar e assim constatar na primeira pessoa a confiança depositada pelo utente no Farmacêutico, reforçou, para mim, a importância do papel que desempenha ao serviço da comunidade, e que nos cabe a nós, geração futura de Farmacêuticos, perpetuar e aperfeiçoar, garantindo a continuidade de uma postura ética e íntegra no exercício desta profissão.

Agradeço, muito reconhecida, à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra pela qualidade de ensino que me proporcionou, e evidentemente, à equipa da Farmácia São Sebastião por esta oportunidade que, com certeza, não teria sido tão gratificante sem o seu constante apoio e disponibilidade, por todas as experiências e ensinamentos transmitidos, bem como o excelente profissionalismo e empatia, que tive oportunidade de testemunhar, e que levo como exemplo a seguir.

Bibliografia

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – A Farmácia Comunitária. [Acedido a 22 de março de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
2. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – Boas Práticas de Farmácia. 2001. [Acedido a 22 de março de 2018]. Disponível na Internet: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/boas_praticas_farmaceuticas_para_a_farmacia_comunitaria_2001_4998359805_ab14791f2d55.pdf
3. MEBOCAÍNA® - MeboProtect® e Mebocaína® Anti-Inflam. [Acedido a 22 de março de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.mebocaina.pt>
4. INFARMED – Despacho n.º 2935-B/2016, de 24 de fevereiro de 2016. [Acedido a 24 de março de 2018]. Disponível na Internet: http://www.infarmed.pt/documents/15786/1068535/043-A1A2_Desp_2935-B_2016_VF.pdf
5. INFARMED – Normas relativas à dispensa de medicamentos e produtos de saúde. 2016. [Acedido a 24 de março de 2018]. Disponível na Internet: http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Normas_Dispensa_20151029.pdf/4c1aea02-a266-4176-b3ee-a2983bdf790
6. INFARMED – Regimes excecionais de comparticipação. [Acedido a 24 de março de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/regimes-excecionais-de-comparticipacao>
7. INFARMED – Despacho n.º 21094/99, de 14 de Setembro de 1999. [Acedido a 24 de março de 2018]. Disponível na Internet: http://www.infarmed.pt/documents/15786/1072289/despacho_21094-99.pdf
8. INFARMED – Comunicado de Imprensa. Quota de medicamentos genéricos atinge recorde de 47,8%. 2017. [Acedido a 25 de março de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.infarmed.pt/documents/15786/1879176/Comunicado+de+Imprensa+Genéricos+e+Qualidade/1cbbe29b-354e-4431-9ba3-5e15fff8117?version=1.0>

9. INFARMED – Portaria n.º 594/2004, de 2 de Junho de 2004. [Acedido a 27 de março de 2018]. Disponível na Internet: http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/portaria_594-2004.pdf/d8b8cac3-3250-4d05-b44b-51c5f43b601a

Anexos

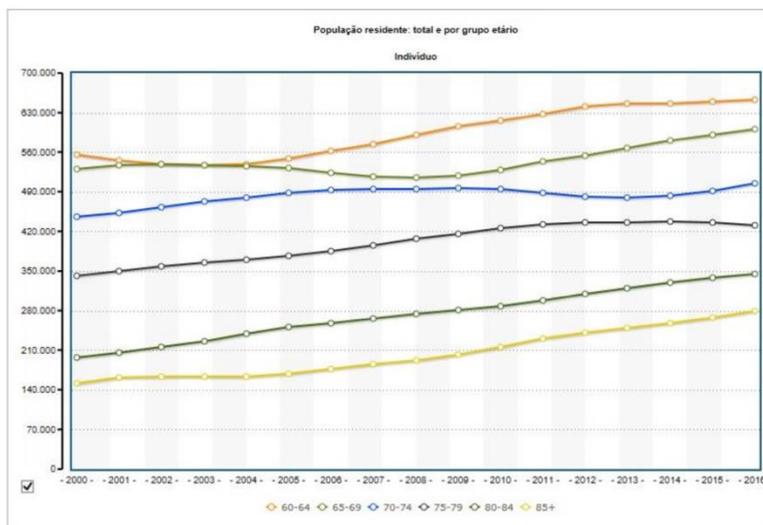
Anexo I. Fachada da Farmácia São Sebastião na Avenida Elísio de Moura.



Anexo 2. Evolução da faixa etária dos 60 aos 85+ anos de idade, em Portugal, entre 2000 e 2016.

PORDATA

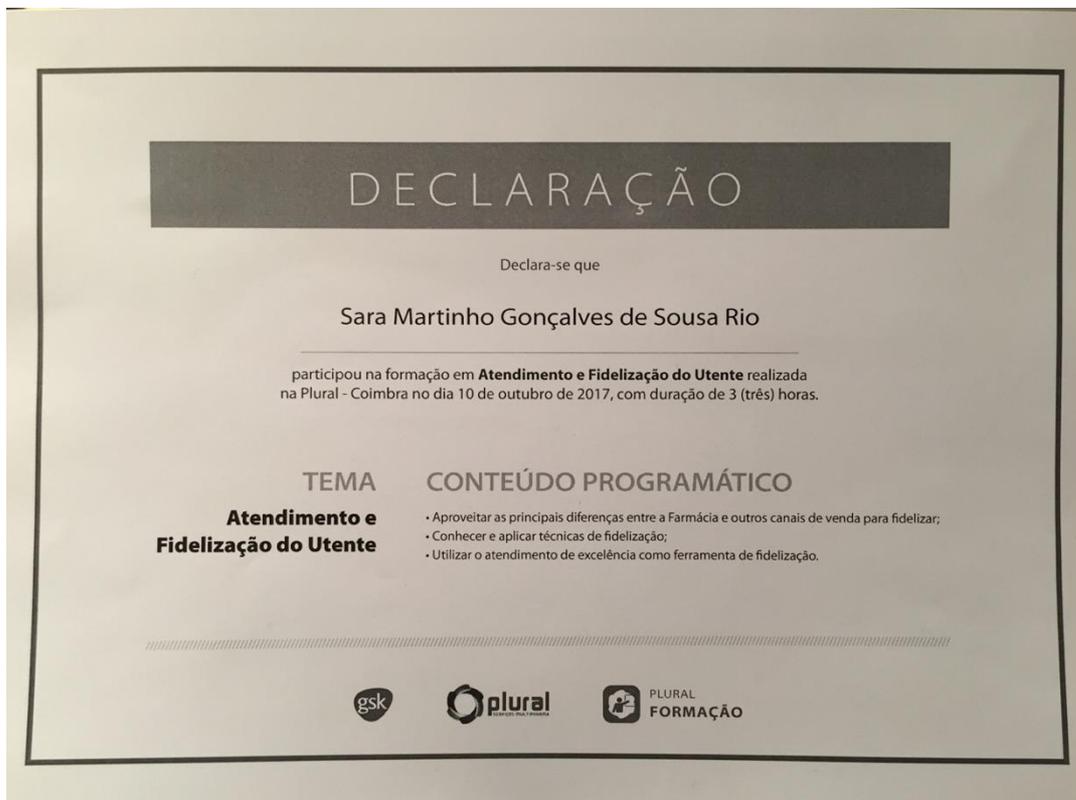
FUNDAÇÃO
FRANCISCO MANUEL DOS SANTOS



Anexo 3. Participação no evento “Digressão SIC de todos nós”.



Anexo 4. Declaração de participação na formação em “Atendimento e Fidelização do Utente”.



Parte II

Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar

Lista de abreviaturas

AVC – Acidente Vascular Cerebral

CHUC – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

DGS – Direção-Geral da Saúde

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

SF – Serviços Farmacêuticos

SWOT – Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats

UMIV – Unidade de Misturas Intravenosas

UPC – Unidade de Produção de Citotóxicos

I. Introdução

O início do segundo semestre do último ano do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) prevê a realização de um Estágio Curricular, que visa dar a oportunidade aos estudantes de colocarem agora em prática aquele que foi o conhecimento teórico adquirido ao longo de 4 anos. Neste contexto, é-nos dada a opção de realizar parte dele em Farmácia Hospitalar, oportunidade que quis aproveitar, por considerar da maior importância alargar a minha experiência a este ramo tão importante das Ciências Farmacêuticas.

Optei por realizar o meu estágio no Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC), por ser uma referência nacional e internacional em diversas áreas, que se diferencia pela excelente prestação de formação e ensino, tendo como missão a procura constante de melhoria no conhecimento científico e inovação¹. Caracteriza-se por altos padrões de qualidade e competência técnica dos serviços prestados assim como apreço pelo trabalho de equipa, valores esses que tive a oportunidade de experienciar em primeira mão ao longo do estágio.

O estágio teve início no dia 8 de janeiro de 2018, dia em que, juntamente com as minhas colegas estagiárias, fui recebida, com a máxima atenção, pela Doutora Marília João Rocha, nossa Tutora. Neste primeiro dia, foi feita uma visita aos diferentes Sectores que constituem os Serviços Farmacêuticos (SF) deste Hospital, e dado a conhecer aquele que seria o objetivo deste estágio assim como o que era esperado, da nossa parte, enquanto estagiárias. Neste dia, e com consideração por aquelas que seriam as preferências de cada uma, foi-nos entregue o Plano de Estágio, Anexo I do presente relatório.

I.1. Farmácia Hospitalar

A nível Hospitalar, a atividade do Farmacêutico é normalizada pelo Decreto-Lei n.º 44 204, de 2 de fevereiro de 1962 – Regulamento Geral da Farmácia Hospitalar², com as devidas alterações ao quadro relativo ao pessoal técnico e auxiliar dos SF dos estabelecimentos hospitalares oficiais, agora regulamentado pelo Decreto-Lei n.º 274/71, de 22 de junho de 1971³.

O Farmacêutico Hospitalar é parte integrante de uma equipa multidisciplinar constituída por diversos profissionais de saúde, nomeadamente médicos e enfermeiros, com os quais colabora, em pleno das suas capacidades como especialista do medicamento, na prestação

de cuidados ao doente, promovendo o seu uso racional, seguro e eficaz. Concretamente, é responsável pela gestão do medicamento em todas as suas vertentes, desde a seleção à sua distribuição e monitorização, considerando critérios não só no que respeita à sua utilização clínica como à sua gestão económica. É o principal responsável pela implementação da política de medicamentos, definida no Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos e pela Comissão de Farmácia e Terapêutica⁴ e por garantir o cumprimento do plano terapêutico, competindo-lhe também a interpretação e validação das prescrições médicas.⁵ Deve ainda colaborar nas atividades de investigação e ensino e “manter actualizadas as suas capacidades técnicas e científicas para melhorar e aperfeiçoar constantemente a sua actividade, por forma que possa desempenhar conscientemente as suas obrigações profissionais perante a sociedade” (Artigo 83.º Decreto-Lei n.º 288/2001)⁶.

Estas tarefas estão distribuídas pelos vários sectores que constituem os Serviços Farmacêuticos, que comunicam entre si visando a otimização do fluxo do medicamento em ambiente hospitalar, demonstrado pelo seguinte esquema:

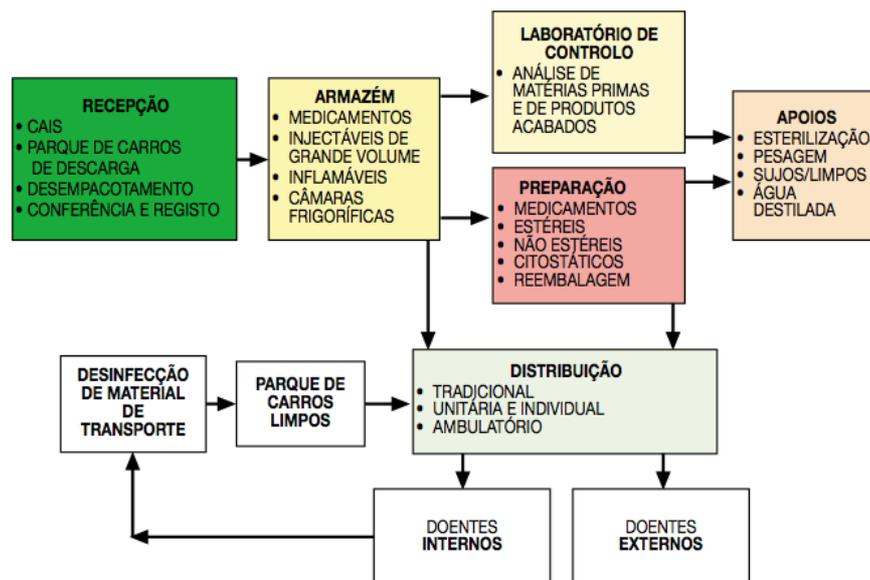


Figura I. "Circuitos de Medicamentos, Produtos Farmacêuticos e Dispositivos Médicos" em Manual da Farmácia Hospitalar.

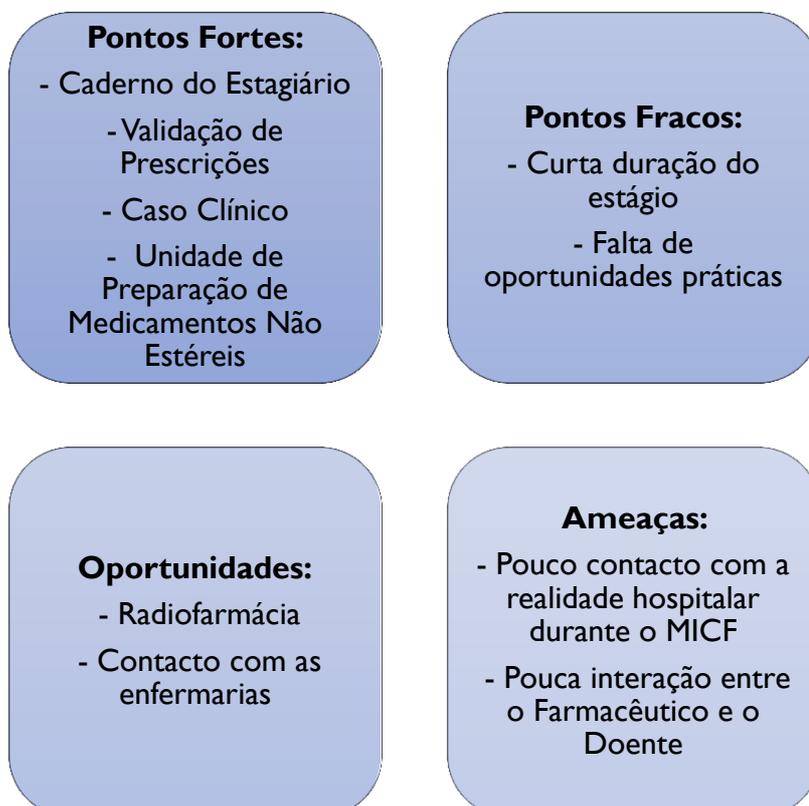
Os Serviços Farmacêuticos são dirigidos pelo Dr. José António Lopes Feio, farmacêutico nomeado pelo Conselho de Administração, em regime de comissão de serviço, nos termos da legislação em vigor.⁷

Relativamente à sua organização, o bloco “central” dos Serviços Farmacêuticos localiza-se no piso -2 do Hospital, onde funcionam os sectores de Aprovisionamento,

Informação de Medicamentos, Ensaios Clínicos e Auditoria Interna. A Farmacotecnia, tem neste piso as Unidades de Misturas Intravenosas e de Preparação de Medicamentos Não Estéreis, ao passo que as sub-unidades de Produção de Citotóxicos e Radiofarmácia se encontram, respetivamente, no Edifício São Jerónimo, por ser lá que se localiza o Hospital de Dia de Oncologia; e no piso -I, inserida no serviço de Medicina Nuclear, por ser este que detém autorização por parte da Direção Geral de Saúde para o uso e manipulação de radioatividade. Também o sector da Distribuição funciona maioritariamente no piso -2, tendo ainda as valências de Ambulatório no bloco central do hospital, junto das consultas externas, para facilitar o acesso por parte dos doentes e também no Edifício São Jerónimo para prestar atendimento aos doentes do Hospital de Dia de Oncologia.

A análise SWOT que se segue prende-se com as áreas da Farmacotecnia e da Distribuição por terem sido estas, as áreas com que tive oportunidade de contactar e, assim, objetivamente concluir acerca daqueles que foram os pontos fortes, fracos, oportunidades e ameaças relativamente à minha experiência de estágio.

2. Análise SWOT



2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Caderno do Estagiário

O Caderno do Estagiário é-nos enviado no primeiro dia de estágio pela Doutora Marília João Rocha. “Este Caderno tem como objetivo definir os conteúdos e a metodologia a seguir no desenvolvimento das diferentes atividades de aprendizagem”. Apresenta um capítulo por cada área dos Serviços Farmacêuticos em que são especificadas as atividades que devem ser realizadas, assim como alguns exercícios que obrigam a uma atenta reflexão e melhor compreensão de cada sector.

Constitui, assim, uma série de linhas orientadoras, tanto para o estagiário como para o tutor, facilitando a organização do plano de estágio e potenciando uma participação ativa por parte do estagiário, que tem então presente aquilo que são os seus deveres assim como consciência das tarefas que deve realizar e o conhecimento que deve de aí adquirir.

2.1.2. Validação das Prescrições

Esta é uma das tarefas fundamentais ao cargo do Farmacêutico Hospitalar na Distribuição. No Hospital Universitário de Coimbra cada Farmacêutica é responsável especificamente pela validação de prescrições de uma ou várias especialidades médicas, facilitando uma certa “especialização” nas principais situações aí tratadas e medicação que lhes é inerente. No entanto, estão aptas a validar prescrições de qualquer especialidade, o que fazem, quando estão de Urgência. Do ponto de vista do estagiário, esta tarefa é uma mais valia uma vez que permite o contacto e familiarização com certos medicamentos e terapêuticas que não seriam tão usuais fora do ambiente hospitalar, permitindo também, a pouco e pouco, desenvolver capacidades de correlação entre a medicação prescrita e a patologia a que se destina. Nesta área da Distribuição, tive como tutora a Dr.^a Isabel Campelo, farmacêutica responsável pela Neurologia, pelo que foi com esta especialidade que tive mais contacto.

Foi-me inculcado que esta tarefa deve ser feita com o máximo rigor e sentido crítico, e na qual o Farmacêutico deve aplicar os seus conhecimentos farmacológicos e farmacocinéticos no sentido de garantir que a prescrição é adequada, não só no que diz respeito ao princípio ativo, mas também à forma farmacêutica, dose, via de administração e posologia, estando ainda ciente das possíveis interações medicamentosas que possam existir.

Neste âmbito, e uma vez que é difícil no ritmo do dia a dia hospitalar, e para quem não está ainda familiarizado com todas as vertentes da prescrição, conseguir avaliá-las criticamente, foi-nos pedido que dispensássemos algum tempo, à análise das prescrições. Esta tarefa, solicitada pela Doutora Marília João, revelou-se de extrema importância na medida em que me possibilitou aplicar a esta nova realidade, conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do curso, nomeadamente na aplicação prática dos Critérios de Beers e lista START/STOP. Este trabalho foi registado na forma de tabela, elaborada em conjunto com as minhas colegas estagiárias, que contempla os pontos que deveríamos então considerar nesta análise, nomeadamente o princípio ativo, interações, e sugestão de alteração, presente no Anexo II.

2.1.3. Caso Clínico

Na minha perspetiva, o caso clínico foi uma das tarefas mais enriquecedoras que nos foi atribuída. O seu desenvolvimento permitiu, não só, a aplicação de variadíssimos conhecimentos teóricos, nomeadamente das áreas de farmacologia, farmácia clínica e farmácia hospitalar, como também uma aproximação àquele que deve efetivamente ser o papel desempenhado pelo Farmacêutico Hospitalar, da perspetiva da Farmácia Clínica, na prestação de Cuidados Farmacêuticos. Além disso, permitiu-me explorar uma patologia específica, no meu caso, o Acidente Vascular Cerebral e os protocolos associados ao seu tratamento, nomeadamente a Via Verde do AVC, regida pela norma da Direção-Geral da Saúde (DGS) “Via Verde do Acidente Vascular Cerebral no Adulto”.⁸

Para a elaboração do caso tive que me familiarizar com a história clínica do doente, suas patologias e evolução e tive oportunidade de analisar as prescrições ao longo do internamento, não só com acesso a fontes primárias, como a prescrição propriamente dita e informação direta dada pelo utente, como oportunidade de as relacionar com fatores secundários, como as notas médicas e de enfermagem, os registos de informação dos sinais vitais e ainda análise de dados laboratoriais e imagiológicos, que viriam então permitir uma intervenção baseada nas condições do doente com vista a maximizar os efeitos terapêuticos e minimizar os riscos associados.

No meu caso, ao comparar a lista de medicação habitual do doente constante do processo, com a medicação prescrita, dei conta de uma discrepância não justificada, que viria a relevar uma falha na reconciliação da medicação na admissão do doente, por omissão de um medicamento. Esta informação foi então comunicada ao médico que procedeu à sua prescrição sendo assim garantida a qualidade da continuidade dos cuidados.⁹ (Anexo III)

2.1.4. Unidade de Preparação de Não Estéreis

Neste sector da Farmacotecnia são preparadas todas as formulações que não necessitem de condições especiais de assepsia. São então preparadas soluções e suspensões orais, papéis medicamentosos, cápsulas ou pomadas, que podem ser medicamentos que não existam comercializados ou que sejam necessários numa forma farmacêutica ou dose diferente da existente. A sua preparação segue uma Guia de Produção, elaborada por um Farmacêutico, com recurso a fontes de informação como o Formulário Galénico Nacional ou a Farmacopeia Portuguesa.

Não requerendo então cuidados especiais de assepsia, a Unidade de Preparação de Não Estéreis dá a oportunidade ao aluno de ter uma participação mais prática nos procedimentos aqui realizados, sendo essa a razão pela qual a destaco como um ponto forte do meu estágio. Aqui, tive então a oportunidade de analisar as Guias de Produção, realizar os cálculos necessários para a preparação da formulação, seu registo e das respetivas matérias primas utilizadas e ainda a elaboração do rótulo tendo em conta os dados obrigatórios que nele devem constar. Tive ainda a oportunidade de participar nalguns passos da sua preparação técnica, nomeadamente na pesagem das matérias primas, que me eram em muito familiares pela sua já realização nas aulas práticas ao longo do curso.

Apesar de, esta Unidade, não estar sujeita a cuidados tão exigentes de assepsia comparativamente com a Unidade de Misturas Intravenosas (UMIV) ou a Unidade de Produção de Citotóxicos (UPC), não deixa de ser obrigatório o uso de bata, luvas, máscara e touca, e o rigoroso cumprimento das Boas Práticas a Observar na Preparação de Medicamentos Manipuladas, que constam do anexo à Portaria n.º 594/2004 de 2 de Junho, garantindo assim que são igualmente eficazes, seguros e de qualidade.¹⁰

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. Curta duração do Estágio

Concluídos os dois meses de estágio, posso afirmar que considereei curta a sua duração. Por exemplo, no sector da farmacotecnia, só é dispensada uma semana a cada área. Tendo em conta que grande parte do funcionamento destas unidades é ainda novidade, penso que cinco dias úteis é pouco tempo para que o estagiário consiga ambientar-se e dar-se conta de todas as atividades ali desenvolvidas, permitindo que possa, ele próprio, sentir-se útil e atingir a plena compreensão daquilo que o rodeia.

Considero ainda - e penso que estou a expressar não só a minha opinião, mas também a da generalidade dos meus colegas - que, por ser a primeira oportunidade para interagirmos, na primeira pessoa, com a realidade do dia-a-dia hospitalar, e com aquela que poderá ajudar a definir como opção futura de percurso profissional, ou não, este ramo das Ciências Farmacêuticas, seria desejável podermos experienciar mais dos seus sectores, sendo para isso necessário mais tempo, ou seja, uma experiência mais prolongada nas diversas áreas.

Posto isto, acho importante realçar que sinto que muito foi atingido no pouco tempo que a este estágio é dispensado, em parte devido ao plano de estágio cuidadosamente elaborado e essencialmente à grande atenção e formação que tive oportunidade de receber de todos os profissionais com quem contactei.

2.2.2. Falta de oportunidades práticas

Apesar de, nos vários sectores, nos ser sempre explicado o que está a ser feito e até muitas vezes fornecido material de suporte para a sua melhor compreensão, sinto que seria uma grande mais valia para o estagiário poder ter maior contacto prático na execução das tarefas. Compreendo, pela alta responsabilidade que acarretam as funções desempenhadas, que esta vertente mais prática não seja fácil de incorporar, mas penso que seria a melhor forma de consolidar os novos conhecimentos adquiridos dando-nos também a oportunidade de ser capazes de superar os desafios assim impostos e ter uma aproximação mais real àquilo que poderá vir a ser o nosso papel futuro.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Radiofarmácia

Considerarei esta área uma oportunidade em duas vertentes: por um lado, por não existir este serviço em todos os hospitais; por outro, por não ter sido um assunto muito abordado ao longo do MICF, tendo-me despertado, assim, especial curiosidade.

A Radiofarmácia é a área da Farmácia Hospitalar responsável pela gestão, manipulação, dispensa e controlo dos medicamentos radiofarmacêuticos. Insere-se no serviço de Medicina Nuclear, uma especialidade multidisciplinar que engloba medicina, física e farmácia.

Nesta unidade são então funções do Farmacêutico Responsável a gestão do laboratório, o controlo de qualidade, registo e controlo, da entrada e saída, de fármacos dos stocks do serviço, e a marcação de radiofármacos, com aplicação essencialmente a nível de diagnóstico, utilizados então para a realização de cintigrafias.

Ao longo da semana em que estive neste sector tive contacto com conceitos base como o que é um radiofármaco, a diferença entre *kits* frios e *kits* quentes e conhecimento dos cuidados necessários à manipulação de radioactividade, nomeadamente os Princípios Básicos de Redução de Exposição à Radiação – tempo, distância e proteção – conceitos esses que tive posteriormente oportunidade de apresentar às minhas colegas estagiárias. (Anexo IV)

Para mim, esta área destacou-se também pela sua multidisciplinariedade, por dela fazerem parte profissionais de diferentes áreas do conhecimento que trabalham lado a lado diariamente, sendo cada um deles essencial à complexidade do trabalho ali desenvolvido. Também eu tive a oportunidade de experienciar na primeira pessoa essa interação, uma vez que na semana em que estive na Radiofarmácia, estive também uma estagiária de Imagem Médica e Radioterapia, o que se demonstrou uma mais valia para ambas, pela troca de conhecimentos teóricos, nesta área, complementares.

2.3.2. Contacto com as enfermarias

Ao longo do estágio foi-nos também pedido que desenvolvêssemos um trabalho de revisão científica que no meu caso se debruçou sobre os Novo Avanços nos Cuidados de Queimados (Anexo V). Nesse contexto, e no sentido de ter uma aproximação real que me ajudasse a compreender melhor a complexidade dos procedimentos desenvolvidos nesta Unidade, a Dr.^a Isabel Campelo sugeriu-me que acompanhasse a Dr.^a Marisa Caetano na visita semanal à Unidade de Queimados. Nesta visita estão presentes médicos, farmacêuticos e enfermeiros e são apresentados, cama a cama, os casos dos doentes internados, que são então debatidos entre todos. Considero um ponto forte do meu estágio ter podido presenciar esta interação multidisciplinar em que cada um dos profissionais procura contribuir com a sua experiência e conhecimentos para aquilo que é missão de todos os profissionais de saúde – o bem do doente.

Nesta unidade, assim como na Unidade de Neurologia, tive também a oportunidade de participar na revisão do *stock*, verificação dos prazos de validade e sua correta arrumação e conservação, função imprescindível do Farmacêutico Hospitalar. Pude também constatar que os medicamentos considerados de alto risco – cujas falhas na utilização são mais

prováveis de causar dano significativo para o doente – se encontravam devidamente identificados, estando as gavetas marcadas com etiquetas de cor vermelha para que se destacassem dos restantes.¹¹ Tive ainda conhecimento da organização do carro de emergência e de todos os medicamentos que dele fazem parte, (Anexo VI) e que este segue a orientação estabelecida pela Direção-Geral da Saúde – “Organização do material de emergência nos serviços e unidades de Saúde” – que estabelece não só a composição e organização do carro de emergência como também as normas de utilização e recomendações de manutenção.¹²

2.4. Ameaças

2.4.1. Pouco contacto com a realidade hospitalar durante o MICF

O primeiro contacto com este ramo das Ciências Farmacêuticas é tido no primeiro semestre do quinto ano, na cadeira de Farmácia Hospitalar. Apesar de considerar que esta unidade curricular foi sem dúvida um fator diferenciador que nos deu as bases acerca do papel do Farmacêutico Hospitalar e dos diferentes sectores e trabalhos realizados em ambiente hospitalar, não deixa de ser avassaladora a quantidade de informação nova com que o estudante se depara quando está efetivamente no Hospital. Na minha perspetiva, este fator revela-se assim uma ameaça no sentido em que atrasa a sua integração e compreensão do funcionamento dos diferentes serviços, processo que poderia ser agilizado e assim talvez até permitir uma abordagem ao estágio mais prática, se este contacto com o meio hospitalar fosse tido, faseadamente, ao longo do curso.

2.4.2. Pouca interação entre o Farmacêutico e o Doente

Penso que este seja um dos principais desafios encontrados a nível hospitalar. Ao longo do estágio, senti que a grande maioria do trabalho realizado pelos farmacêuticos era feito como que nos “bastidores”. Apesar do grande contacto com médicos, enfermeiros e outros profissionais de saúde, o contacto com o doente, foco da nossa atividade profissional, é ainda muito limitado, sendo muitas vezes apenas diretamente estabelecido na unidade de Ambulatório. Esta situação representa assim um entrave àquela que se pretende ser a noção de Farmacêutico transmitida ao doente – muito mais que um simples dispensador de medicamentos, o Farmacêutico é um especialista do medicamento, altamente qualificado, cuja atividade é imprescindível na promoção do seu uso racional, para que se possam

maximizar os efeitos benéficos obtidos assim como minimizar os riscos associados e ainda o de racionalizar os custos que lhe são inerentes.

Para que o Farmacêutico possa então desempenhar o seu papel, em pleno das suas capacidades e possa “colaborar com todos os profissionais de saúde, promovendo junto deles e do doente a utilização segura, eficaz e racional dos medicamentos”¹³ (Código deontológico da Ordem dos Farmacêuticos, artigo 16º), é fundamental a aproximação ao doente, permitindo-lhe ter na sua posse o máximo de informação, que lhe permita, aí sim, uma validação da prescrição com conhecimento de fatores determinantes para a otimização da terapêutica.

3. Conclusão

Concluído o Estágio Curricular em Farmácia Hospitalar nos CHUC, a 28 de Fevereiro de 2018, posso afirmar que estes dois meses foram muito gratificantes, tanto em termos de formação profissional, como pessoal.

A oportunidade de fazer parte do dia-a-dia de um hospital desta dimensão, reafirmou, para mim, o papel imprescindível desempenhado pelo Farmacêutico, que diariamente coloca ao serviço do doente os seus conhecimentos técnico-científicos, procurando sempre fazê-lo com a máxima qualidade e rigor, revelando-se uma peça fundamental para o bom funcionamento do sistema de saúde.

Destaco ainda, do ponto de vista pessoal, o bom ambiente que vivi e enriquecimento que supõe o contacto com uma realidade profissional onde a partilha, o espírito de equipa, a comunicação interna – entre profissionais, e externa – com os doentes, é em cada dia um desafio quase tão importante como o de assegurar a ótima implementação das terapêuticas.

Agradeço, muito reconhecida, a todas as farmacêuticas e farmacêuticos com quem tive o privilégio de contactar, bem como a outros profissionais que constituem esta excelente equipa, por toda a atenção prestada e empenho na minha formação e integração nos CHUC, e que contribuíram assim para que esta vivência pré-profissional se constituísse como um marco muito positivo no meu percurso como aluna do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Coimbra.

Bibliografia

1. CENTRO HOSPITALAR E UNIVERSITÁRIO DE COIMBRA – Missão, Visão e Valores – [Acedido a 9 de março de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.chuc.min-saude.pt/paginas/centro-hospitalar/missao-visao-e-valores.php>
2. INFARMED – Decreto-Lei 44 204, de 2 de Fevereiro de 1962 - Regulamento geral da Farmácia Hospitalar – [Acedido a 9 de março de 2018]. Disponível na Internet: http://www.infarmed.pt/documents/15786/1068150/decreto_lei_44204-1962.pdf
3. MINISTÉRIO DA SAÚDE – Decreto-Lei n.º 274/71, de 22 de Junho de 1971. Diário da República: I série. N.º 145 [Acedido a 9 de março de 2018]. Disponível na Internet: <https://dre.pt/application/file/71495>
4. BROU, M. H. L., FEIO, J. A. L., MESQUITA, E., RIBEIRO, R. M. P. F., BRITO, M. C. M., CRAVO, C. E PINHEIRO, E. – Manual da Farmácia Hospitalar. 2005 – [Acedido a 11 de março de 2018]. Disponível na Internet: http://www.infarmed.pt/web/infarmed/institucional/documentacao_e_informacao/publicacoes/tematicos/manual-da-farmacia-hospitalar
5. SINDICATO NACIONAL DOS FARMACÊUTICOS – Carreira Farmacêutica - Fundamentação e linhas de orientação. 2009. [Acedido a 11 de março de 2018]. Disponível na internet: <http://app.parlamento.pt/webutils/docs/doc.pdf>
6. MINISTÉRIO DA SAÚDE – Decreto-Lei n.º 288/2001 – Estatuto da Ordem dos Farmacêuticos. I-A série. N.º 261 [Acedido a 12 de março de 2018]. Disponível na Internet: <https://dre.pt/application/file/116446>
7. CENTRO HOSPITALAR E UNIVERSITÁRIO DE COIMBRA – Serviços Farmacêuticos – [Acedido a 12 de março de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.chuc.min-saude.pt/paginas/centro-hospitalar/estrutura-organizacional/suporte-a-prestacao-de-cuidados/servicos-farmaceuticos.php>
8. DIREÇÃO-GERAL DA SAÚDE – Norma da Direção-Geral da Saúde – Via Verde do Acidente Vascular Cerebral no Adulto. 2007. [Acedido a 12 de março de 2018].

Disponível na Internet: <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0152017-de-13072017.aspx>

9. DIREÇÃO-GERAL DA SAÚDE – Norma da Direção-Geral da Saúde – Reconciliação da medicação. 2016. [Acedido a 13 de março de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0182016-de-30122016.aspx>

10. INFARMED – Portaria n.º 594/2004, de 2 de Junho – Boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados em farmácia de oficina e hospitalar. [Acedido a 13 de março de 2018]. Disponível na Internet: http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/portaria_594-2004.pdf/d8b8cac3-3250-4d05-b44b-51c5f43b601a

11. DIREÇÃO-GERAL DA SAÚDE – Norma da Direção-Geral da Saúde – Medicamentos de alerta máximo. 2015. [Acedido a 13 de março de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0142015-de-06082015.aspx>

12. DIREÇÃO-GERAL DA SAÚDE – Orientação da Direção-Geral da Saúde – Organização do material de emergência nos serviços e unidades de Saúde. 2011. [Acedido a 13 de março de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/orientacoes-e-circulares-informativas/orientacao-n-0082011-de-28032011.aspx>

13. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos – [Acedido a 13 de março de 2018]. Disponível na Internet: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/codigo_deontologico_da_of_4436676175988472c14020.pdf

Anexos

Anexo I. Plano de Estágio

Sara Martinho G deSousa Rio			
Jan - Fev	Turno (9h-16,30h)		
	Tutor	Local	Actividade
feriado	Dia Trabalhador		
2	Pharmacare	FFUC	
3	Pharmacare	FFUC	
4	Pharmacare	FFUC	
5	Pharmacare	FFUC	
sab			
domin			
8	Marília João	Biblioteca HUC	Conhecimento do serviço e Apresentação dos principais sectores
9	Lisete	Farm.- UPC	Seguir Caderno de Estagiário
10	Lisete	Farm.- UPC	Seguir Caderno de Estagiário
11	Lisete	Farm.- UPC	Seguir Caderno de Estagiário
12	Lisete	Farm.- UPC	Seguir Caderno de Estagiário
sab			
domin			
15	Lisete	Farm.- Radiofarmácia	Seguir Caderno de Estagiário
16	Lisete	Farm.- Radiofarmácia	Seguir Caderno de Estagiário
17	Lisete	Farm.- Radiofarmácia	Seguir Caderno de Estagiário
18	Lisete	Farm.- Radiofarmácia	Seguir Caderno de Estagiário
19	Lisete	Farm.- Radiofarmácia	Seguir Caderno de Estagiário
sab			
domin			

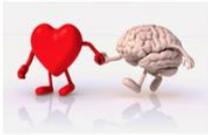
Sara Martinho G deSousa Rio			
Jan - Fev	Turno (9h-16,30h)		
	Tutor	Local	Actividade
sab			
domin			
22	Lisete	Farm - UMIV	Seguir Caderno de Estagiário
23	Lisete	Farm - UMIV	Seguir Caderno de Estagiário
24	Lisete	Farm - UMIV	Seguir Caderno de Estagiário
25	Lisete	Farm - UMIV	Seguir Caderno de Estagiário
26	Lisete	Farm - UMIV	Seguir Caderno de Estagiário
sab			
domin			
29	Lisete	Farm - UMIV	Seguir Caderno de Estagiário
30	Lisete	Farm - UMIV	Seguir Caderno de Estagiário
31	Lisete	Farm - UMIV	Seguir Caderno de Estagiário
1	Lisete	Farm - UMIV	Seguir Caderno de Estagiário
2	Lisete	Farm - UMIV	Seguir Caderno de Estagiário

Sara Martinho G deSousa Rio			
Jan - Fev	Turno (9h-16,30h)		
	Tutor	Local	Actividade
5	Sebastião /	Distribuição HUC	Seguir Caderno de Estagiário
6	Sebastião /	Distribuição HUC	Seguir Caderno de Estagiário
7	Sebastião /	Distribuição HUC	Seguir Caderno de Estagiário
8	Sebastião /	Distribuição HUC	Seguir Caderno de Estagiário
9	Sebastião /	Distribuição HUC	Seguir Caderno de Estagiário
sab			
domin			
12	Sebastião /	Distribuição HUC	Seguir Caderno de Estagiário
13	Sebastião /	Distribuição HUC	Seguir Caderno de Estagiário
14	Sebastião /	Distribuição HUC	Seguir Caderno de Estagiário
15	Sebastião /	Distribuição HUC	Seguir Caderno de Estagiário
16	Sebastião /	Distribuição HUC	Seguir Caderno de Estagiário
sab			
domin			
19	Sebastião /	Distribuição HUC	Seguir Caderno de Estagiário
20	Sebastião /	Distribuição HUC	Seguir Caderno de Estagiário
21	Sebastião /	Distribuição HUC	Seguir Caderno de Estagiário
22	Sebastião /	Distribuição HUC	Seguir Caderno de Estagiário
23	Sebastião /	Distribuição HUC	Seguir Caderno de Estagiário
sab			
domin			
26	Sebastião /	Distribuição HUC	Seguir Caderno de Estagiário
27	Sebastião /	Distribuição HUC	Seguir Caderno de Estagiário
28	Sebastião /	Distribuição HUC	Seguir Caderno de Estagiário
8 de Janeiro às 9h - Reunião Bibli. de apresentação colegas UC (1h)			
25 e 26 de Janeiro às 13h- Reunião Bibli. apresentações de sectores e trabalhos de revisão			
27 e 28 Fevereiro às 13h - Reunião Bibli. apresentações de casos clínicos e Caderno Estagiário			

Anexo III. Caso Clínico

CHUC CENTRO HOSPITALAR UNIVERSITÁRIO DE COIMBRA
 FFCV FACULDADE DE FARMÁCIA UNIVERSIDADE DE COIMBRA
 Estágio pré-licenciatura

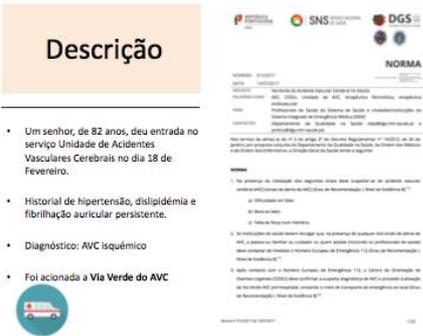
CASO CLÍNICO



Estagiária: Sara Martinho Gonçalves de Sousa Rio
Número de aluno: 2011153597
Tutor: Doutora Marília João

Descrição

- Um senhor, de 82 anos, deu entrada no serviço Unidade de Acidentes Vasculares Cerebrais no dia 18 de Fevereiro.
- Historial de hipertensão, dislipidémia e fibrilhação auricular persistente.
- Diagnóstico: AVC isquémico
- Foi acionada a Via Verde do AVC



SNS, DGS

321 000 /mm³

99 mg/dL

aPTT 31,8 (normal)

PA 140/98 mmHg

77 bpm

Apirético

14 cmp

Set O₂ - 97% (aa)

INR 1,6: o doente fazia terapêutica anticoagulante com Varfarina - o valor alvo de INR encontra-se habitualmente entre 2 e 3.

Fibrinólise: alteplase IV

- O tratamento deve ser iniciado, tão cedo quanto possível: depois de 4,5 horas após o início dos sintomas de acidente vascular cerebral, a razão benefício-risco associada à administração é negativa, e consequentemente este não deve ser administrado.
- A dose recomendada é 0,9 mg alteplase/Kg de peso corporal (máximo de 90 mg) em perfusão intravenosa durante 60 minutos, sendo 10% da dose total administrada como bólus intravenoso inicial.
- Evidência de hemorragia intracraniana (HIC) na TAC

Avaliação Imagiológica



TAC CE
Sem hemorragia e sem lesões parénquimatosas

↓

Indicação para fibrinólise



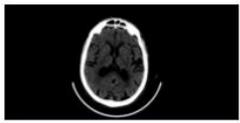
AngioTC
Confirma oclusão distal do segmento M1 da artéria cerebral média direita

↓

Indicação para trombectomia

Trombectomia Mecânica

mRS score 0-1 prévio ao AVC
 AVC isquémico tratado com rPA IV até 4,5h após instalação do quadro clínico
 Oclusão da ACI ou segmento proximal da ACM (M1)
 NIHSS ≥6
 ASPECTS ≥6



NIHSS = 9; Ferramenta que mede objetivamente a deficiência causada pelo AVC.

TICI inicial: 0
TICI final: 3

O doente apresenta 3 factores de risco vascular cerebral inequívoco e potencialmente modificáveis



Hipertensão Arterial: o mais importante e com uma forte associação para todos os tipos de AVC (isquémico e hemorrágico).



Dislipidémia: colesterol total elevado e o colesterol HDL baixo são factores de risco para AVC isquémico. As estatinas reduzem o risco de um primeiro AVC e mesmo após AVC recente têm uma eficácia pequena mas significativa na redução do AVC recorrente



Fibrilhação Auricular Persistente: facilita a formação de trombos intracardíacos que podem entrar em circulação e ocluir artérias mais distais, nomeadamente as cerebrais aumentando em 3 a 4 vezes o risco de AVC.

Tabela Terapêutica - Internamento

Medicamento	Forma	Dose	Via adm.	Freq.	Horário	Cl.	Obs.
Oxazepam 30 mg Comp.	Comp.	30	Oral	1-2	23 h	1	
Haloperidol 5mg/ml Sol inj Fr 1 ml IM IV	Sol. Inj.	5	I.V.	SOS 2	SOS até 3 1ª	2	Nunca foi administrado
Paracetamol 500 mg/ml Sol inj Fr 100 ml IV	Sol. Inj.	1000	I.V.	SOS 3	SOS até 3 1ª	3	Administrado 23.02 (23h-13h-23h)
Furosemida 20mg/2ml Sol inj Fr 2 ml IM IV	Sol. Inj.	20	I.V.	2 1ª	7h - 18h	2	
Labetalol 100 mg/20ml Sol inj	Sol. Inj.	10	IV	SOS 1	SOS até 3 1ª	1	
Carvedilol 6.25 mg Comp.	Comp.	6.25	Oral	1 1ª	8h	1	
Atorvastatina 10 mg Comp.	Comp.	10	Oral	1 1ª	23 h	1	
Enoxaparina sódica 60 mg/0.4 ml Sol inj Ser 0.4 ml SC	Sol. Inj.	60	S.C.	1 1ª	23 h	1	Início 20.02
Ácido acetilsalicílico 100 mg Comp GR	Comp.	100	Oral	1 1ª	13 h	1	Início 20.02
Pantoprazol 40 mg Comp GR	Comp.	40	Oral	1 1ª	23 h	1	
Levetiracetam Sódica 0.025 mg Comp	Gastrofarmacos	0.025	Oral	1 1ª	7h	1	Reinício 23.02
Eufedramina 50 mg/5 ml Biot 100 g	Gal.	1	Colúmbia	3 1ª	7h-12h-23h	1	Início 21.02
Naproxeno 500 mg Comp.	Comp.	500	Oral	3 1ª	8h-16h-23h	3	Início 20.02
Clorato de potássio 600 mg Comp LP	Comp. LP	600	Oral	2 1ª	Post. Almoço e jantar	2	
Clorato de Sódio 9 mg/ml Sol inj Fr 100/1000 ml IV	Sol. Inj.	100 ml	I.V.	1 1ª	13 h	1	
Pulsiferolol Sol inj Fr/Buco 1000 ml IV	Sol. Inj.	1000 ml	I.V.	1 1ª	23 h	1	

Tabela Terapêutica - Internamento

O Oxazepam foi iniciado numa dose de 15 mg mas foi aumentado na segunda noite

Medicamento	Forma	Dose	Via adm.	Freq.	Horário	Cl.	Obs.
Oxazepam 30 mg Comp.	Comp.	15	Oral	1-2	23 h	1	
Haloperidol 5mg/ml Sol inj Fr 1 ml IM IV	Sol. Inj.	5	I.V.	SOS 2	SOS até 3 1ª	2	Nunca foi administrado
Paracetamol 500 mg/ml Sol inj Fr 100 ml IV	Sol. Inj.	1000	I.V.	SOS 3	SOS até 3 1ª	3	Administrado 23.02 (23h-13h-23h)
Furosemida 20mg/2ml Sol inj Fr 2 ml IM IV	Sol. Inj.	20	I.V.	2 1ª	7h - 18h	2	
Labetalol 100 mg/20ml Sol inj	Sol. Inj.	10	IV	SOS 1	SOS até 3 1ª	1	
Carvedilol 6.25 mg Comp.	Comp.	6.25	Oral	1 1ª	8h	1	
Atorvastatina 10 mg Comp.	Comp.	10	Oral	1 1ª	23 h	1	
Enoxaparina sódica 60 mg/0.4 ml Sol inj Ser 0.4 ml SC	Sol. Inj.	60	S.C.	1 1ª	23 h	1	Início 20.02
Ácido acetilsalicílico 100 mg Comp GR	Comp.	100	Oral	1 1ª	13 h	1	Início 20.02
Pantoprazol 40 mg Comp GR	Gastrofarmacos	40	Oral	1 1ª	23 h	1	
Levetiracetam Sódica 0.025 mg Comp	Gastrofarmacos	0.025	Oral	1 1ª	7h	1	Hipotirodismo - reiniciou dia 22.02
Eufedramina 50 mg/5 ml Biot 100 g	Gal.	1	Colúmbia	3 1ª	7h-12h-23h	1	Início 21.02
Naproxeno 500 mg Comp.	Comp.	500	Oral	3 1ª	8h-16h-23h	3	Início 20.02
Clorato de potássio 600 mg Comp LP	Comp. LP	600	Oral	2 1ª	Post. Almoço e jantar	2	
Clorato de Sódio 9 mg/ml Sol inj Fr 100/1000 ml IV	Sol. Inj.	100 ml	I.V.	1 1ª	13 h	1	
Pulsiferolol Sol inj Fr/Buco 1000 ml IV	Sol. Inj.	1000 ml	I.V.	1 1ª	23 h	1	

Medicação que fazia em casa, Captopril passado de 25mg para 6.25 mg

Naproxeno foi prescrito numa dose de 1500 mg por dia. Deve ser tida em consideração a administração de doses mais baixas em doentes com problemas renais ou hepáticos e em doentes idosos. A dose recomendada é de 250 mg ou 500 mg em duas doses diárias (manhã e noite) - no tratamento de doentes com 1500 mg/dia, o médico deve observar suficiente aumento do benefício clínico para justificar o aumento potencial do risco.

Organ System, Therapeutic Category, Drug	Risk Factor	Recommendation	Quality of Evidence	Strength of Recommendation
Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), COX-2 Inhibitors, Aspirin, Oral High Dose Aspirin, Oral Low Dose Aspirin, Topical NSAIDs, Topical High Dose NSAIDs, Topical Low Dose NSAIDs, Topical High Dose NSAIDs, Topical Low Dose NSAIDs	Increased risk of gastrointestinal bleeding or perforation, oral doses > 150 mg daily, concurrent corticosteroids, anticoagulants, or antiplatelet agents, use of proton-pump inhibitors or H2-receptor antagonists but does not decrease risk, upper gastrointestinal injury, ulcer, ulcer re-bleeding, 1% of patients treated for 3-6 months and 0.5-1% of patients treated for 1 year have bleeds continue with long duration of use	Avoid chronic use, unless after observation and risk/benefit analysis and patient on low gastrointestinal upset regimen or if proton-pump inhibitor or H2-receptor antagonist is used	Moderate	Strong

Haloperidol foi prescrito em SOS até 5 mg duas vezes por dia. Apesar de nunca ter sido administrado, em doentes idosos há maior risco de desenvolvimento de efeitos secundários mesmo com doses baixas. Os efeitos sedativos são também mais acentuados.

Organ System, Therapeutic Category, Drug	Risk Factor	Recommendation	Quality of Evidence	Strength of Recommendation
Antipsychotics, First Generation, Second Generation	Increased risk of orthostatic hypotension and greater use of cognitive decline and hospitalization, increased risk of falls, dizziness or vertigo, blurred vision, dry mouth, constipation, urinary retention, hypotension, weight gain, hyperglycemia, hyperlipidemia, QT prolongation, prolonged QTc interval, prolonged QTc interval, prolonged QTc interval, prolonged QTc interval	Avoid chronic use, unless after observation and risk/benefit analysis and patient on low gastrointestinal upset regimen or if proton-pump inhibitor or H2-receptor antagonist is used	Moderate	Strong

Interações

Medicamento 1	Medicamento 2	Nível de Interação	Consequência
Enoxaparina sódica + Ácido acetilsalicílico		Maior	Risco de hemorragia aumentado.
Enoxaparina sódica + Naproxeno		Maior	Risco de hemorragia gastrointestinal aumentado.
Ácido acetilsalicílico + Naproxeno		Moderada	Risco de hemorragia gastrointestinal aumentado.
Naproxeno + Furosemida		Moderada	Evitar desidratação. Monitorizar pressão arterial e função renal.
Oxazepam + Furosemida		Moderada	Monitorizar pressão arterial. Risco aumentado de hipotensão, tonturas e taquicardia.
Naproxeno + Pantoprazol		Moderada	Diminuição da absorção do naproxeno.

Até à data o doente continua internado pelo que não foi possível avaliar a reconciliação da terapêutica. No entanto, será expectável:

- Reajuste da terapêutica anti-hipertensora;
- Manutenção da terapêutica anti-dislipidémica;
- Manutenção da terapêutica para o hipotirodismo.

Substituição entre enoxaparina sódica e anticoagulantes orais (antagonistas da vitamina K):

Devem ser intensificados a monitorização clínica e os testes laboratoriais [tempo de protrombina expresso como Racio Internacional Normalizado (INR)] para monitorizar os efeitos dos AVK.

Como existe um intervalo antes de ser atingido o efeito máximo dos AVK, a terapêutica com enoxaparina sódica deve ser continuada em doses constantes durante o tempo que for necessário de maneira a manter o INR no intervalo terapêutico desejado.



Anexo IV. Apresentação da Radiofarmácia

CHUC - U... FHC - FACULDADE DE FARMÁCIA - UNIVERSIDADE DE COIMBRA Estágio pré-licenciatura

Radiofarmácia



Estagiário: Sara Martinho G. Sousa Rio
Número de aluno: 2011153597
Tutor: Doutora Marília João

Radiofarmácia

Área da Farmácia Hospitalar responsável pela gestão, manipulação, dispensa e controlo dos medicamentos radiofarmacêuticos.

Inserir-se no serviço de Medicina Nuclear, uma especialidade multidisciplinar que engloba medicina, física e farmácia, por ser este que detém autorização por parte da DGS para o uso e manipulação de radioactividade.



Radiofármaco

Definição ⁽¹⁾:

"...**Medicamento radiofarmacêutico** é qualquer medicamento que, quando pronto para ser utilizado, contenha um ou vários radionuclídeos ou isótopos radioativos destinados a diagnóstico ou a utilização terapêutica;..."

(1) Decreto-Lei nº 176/2006 (Estatuto do Medicamento)

Radiofármaco ideal

↓

Proporcionar a máxima eficiência no diagnóstico ou tratamento;

↓

Expor o doente à menor dose de radiação possível.



Como é que o radionuclídeo emite radiação?

Por apresentar um núcleo atómico instável que emite energia ao transformar-se num isótopo mais estável.

α
 β^-

TRATAMENTO

γ
 β^+

DIAGNÓSTICO

↓

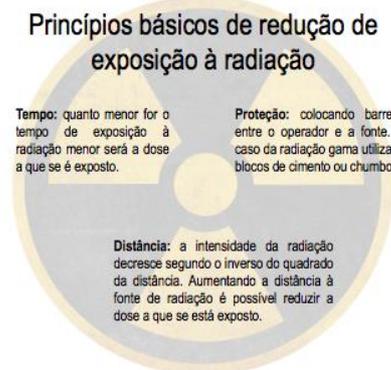
O decaimento destes radionuclídeos dá origem a radiação eletromagnética que consegue atravessar os tecidos e pode ser detetada externamente.

Princípios básicos de redução de exposição à radiação

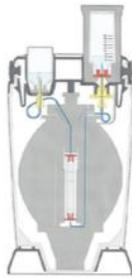
Tempo: quanto menor for o tempo de exposição à radiação menor será a dose a que se é exposto.

Proteção: colocando barreiras entre o operador e a fonte. No caso da radiação gama utilizando blocos de cimento ou chumbo.

Distância: a intensidade da radiação decresce segundo o inverso do quadrado da distância. Aumentando a distância à fonte de radiação é possível reduzir a dose a que se está exposto.



Gerador $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$



Como fonte de radioisótopo para incorporação no radiofármaco é utilizado um **gerador**:
 Consiste numa coluna de alumínio na qual está absorvido o **Molibdênio**, radioisótopo com $t_{1/2}$ longo, que decai para **Tecnécio**, radioisótopo com $t_{1/2}$ curto. Este é extraído da coluna fazendo passar uma solução de cloreto de sódio. Chama-se a este processo **eluição** e ao composto resultante **eluato**, que será então utilizado na preparação dos radiofármacos.

Uma vez que o Tecnécio tem um tempo de meia vida de apenas 6 horas, a maior parte dos fármacos utilizados são obtidos pela farmácia ainda sem radioatividade incorporada, denominando-se

KITS FRIOS

São preparados na Radiofarmácia do hospital pouco antes de serem utilizados, evitando assim a perda de uma fração significativa de radiofármaco marcado (por decaimento do radionuclídeo).

Marcação de um KIT FRIO



1. Preparação do material e zona de trabalho.



2. Retirar a quantidade de Tecnécio necessário para o radiofármaco em questão.



3. Adicionar NaCl 0,9% à seringa de modo a perfizermos o volume que pretendemos.



4. Adicionar o conteúdo da seringa ao frasco de kit.



5. Proceder à calibração do radiofármaco (medição da A).



6. Rotular o protector de frasco.

Todo o processo é realizado numa câmara isoladora com pressão negativa e plumbada, mantém a assepsia do meio de preparação e protege o manipulador da incidência da radiação. É isolado do exterior, apenas permitindo a entrada e saída de material quando são abertos os transferes.

Radiofármaco	Marca	Indicação
$^{99\text{m}}\text{Tc}$ HMPAO	Ceretec Stabilized®	Estudo de perfusão cerebral
$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tetrofosmina	Myoview®	Estudo de perfusão miocárdica
$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Nanocolóides de Albumina	Nanocol®	Linfocintigrafia – localização do gânglio sentinela
$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HMDP	Osteocis®	Pesquisa de metástases ósseas, fraturas ocultas, doença óssea metabólica
$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAG3	Mertioscan®	Cintigrafia renal - Estudo dinâmico de perfusão do trato urinário
$^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA	Renocis®	Cintigrafia renal - Estudos morfológicos do córtex renal

Estudo dinâmico de perfusão do trato urinário

Utilizado em pediatria, em casos de infecção urinária recorrente, permitindo avaliar se há refluxo

Marcação Celular – Radiofármacos Autólogos

Radiofármacos que se preparam a partir de amostras biológicas do próprio doente;

Células sanguíneas e alguns componentes do plasma podem marcar-se com radionuclídeos.

Aproveitando os padrões de distribuição específicos, obtêm-se estudos cinéticos ou de diagnóstico com imagem.

Marcação de Leucócitos

Síndrome febril indeterminado
Infecções osteoarticulares

Infecções localizadas (abscessos)
Doença inflamatória intestinal crónica

Princípios básicos de Boa Prática Radiofarmacêutica

- ✓ Os radiofármacos não podem ser contaminados pelo manipulador e pelo meio ambiente.
- ✓ O manipulador e o meio ambiente não podem ser contaminados pelos radiofármacos.

Funções do Farmacêutico na Radiofarmácia

- Gestão do Laboratório;
- Marcação de radiofármacos agendados;
- Marcação de radiofármacos para exames de urgência;
- Marcação de células;
- Controlo de qualidade;
- Registos, controlo da entrada e saída de fármacos dos stocks do serviço;
- Integrar a equipa do Serviço de Medicina Nuclear.

Anexo V. Novos avanços nos Cuidados de Queimados

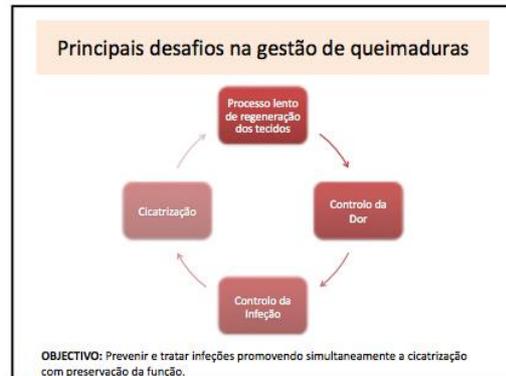
CHUC FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Estágio pré-licenciatura

Novos avanços nos Cuidados de Queimados



Estagiário: Sara Martinho Gonçalves de Sousa Rio
Número de aluno: 2011153597
Tutor: Doutora Marília João



GOLD STANDARD

Excisão do tecido necrótico seguido de enxerto autólogo – excisão de tecido do próprio doente de um local não afetado que será colocado no local da queimadura.

LIMITAÇÕES

- Não é viável quando a superfície corporal afectada é muito elevada (> 50%)
- Tempo necessário para a regeneração do tecido dador
- Padrão irregular de cicatrização

Substitutos de tecidos

BIOLÓGICOS	SINTÉTICOS
VANTAGENS	
Componentes presentes na pele natural	<ul style="list-style-type: none"> • Não há risco de transmissão de doença • Melhor integridade estrutural
DESvantagens	
Substancialmente mais simples comparando com a complexidade da pele humana	Poucos disponíveis no mercado hoje em dia
Possibilidade de transmissão de doenças e rejeição	Baixa bioatividade

Novas técnicas e biomateriais demonstram um futuro promissor: mudança do foco de intervenções cirúrgicas tradicionais para regeneração de tecidos recorrendo a técnicas de bioengenharia.

"PELE VIVA"

Completamente funcional → melhorar recuperação da ferida, desencadear regeneração dos tecidos e reduzir as consequências a longo prazo da cicatrização

DESAFIOS:

- baixa vascularização
- dificuldade na infiltração e migração celular
- falta de reconhecimento de sinais celulares
- baixa força mecânica

Biomateriais inovadores
Formulações tecnológicas avançadas
Novos métodos de incorporação de células autólogas

↓

Aumentar a complexidade dos substitutos de pele.



Biomateriais

Colagénio
 Promove a proliferação de queratinócitos e fibroblastos.

Ácido Hialurónico
 Componente estrutural da pele com baixa imunogenicidade, quimicamente modificado para aumentar a sua resistência a degradação.

Elastina
 Promove angiogénese. Associada ao colagénio faz diminuir a contractilidade da ferida evitando problemas na cicatrização.

Seda
 Melhora a adesão celular e proliferação de fibroblastos e ainda, aumentar a expressão de colagénio.

Novas Técnicas

Proteínas Recombinantes
 Produção de proteínas artificiais da matriz extracelular por manipulação genética:

- diminuir o risco de transmissão de doenças e respostas imunológicas do hospedeiro
- aumentar a bioactividade melhorando assim a recuperação dos tecidos.

Electrospinning
 Permite a produção de nanofibras que irão mimetizar a matriz extracelular; Combina materiais naturais e sintéticos para melhorar tanto a bioactividade como as características mecânicas.

Bio-impressão 3D:
 Produção de uma matriz uniforme, por deposição controlada e precisa de células vivas, biomateriais e factores de crescimento utilizando concepção assistida por computador (CAD).

Controlo da Dor

Morfina: Gold standard nas fases iniciais pós queimadura.
Sistema nervoso central. Analgésicos estupefacientes.

Cetamina
Sistema Nervoso Central. Anestésicos gerais.
Utilizada desde 1960 pelas potentes propriedades analgésicas e sedativas com capacidade para reduzir hiperalgesia.

Benzodiazepinas
Sistema nervoso central. Ansiolíticos, sedativos e hipnóticos.
Amplamente utilizadas como coadjuvantes – foi demonstrado que a ansiedade diminui a tolerância a dor.

Pregabalina e Gabapentina
Anticonvulsivantes.
Pregabalina tem ação tanto na fase aguda como ao longo do processo de recuperação na diminuição da dor neuropática.
Gabapentina tem recebido alguma atenção não pela diminuição da dor aguda mas pelos seus resultados favoráveis na gestão do prurido.

Controlo da Dor – futuros alvos terapêuticos

TRP - Receptores de Potencial Transitório

Devido ao seu envolvimento na condução de dor por queimadura

TRPV1 é um dos principais recetores envolvidos na hiperalgesia termal durante a fase aguda pós queimadura pelo que a sua inibição parece uma abordagem lógica para a produção de analgesia. No entanto, estes estão envolvidos na homeostase da temperatura corporal pelo que ainda não é claro como podem vir a ser desenvolvidos para utilização sistémica, como agentes específicos no tratamento da dor.

Na_v - Canais de Sódio dependentes de voltagem

Na_v1,7, o seu bloqueio demonstrou diminuir a sensibilidade a estímulos mecânicos e térmicos e assim reduzir significativamente a hiperalgesia térmica. NaV1.8 e NaV1.9, são expressos predominantemente em pequenos neurónios que incluem células nociceptivas. Parecem desempenhar um papel importante nos mecanismos da dor o que sugere que são bons alvos para o tratamento farmacológico da dor.

Causa mais comum de morte devido a queimaduras

Controlo da Infecção

Tópicos	Sistémicos
<p>1940: Sulfatiazol foi dos primeiros a ser utilizado</p> <p>1968: Sulfadiazina de prata passou a ser standard</p> <p>No entanto, necessidade de mudanças de penso regulares, baixa penetração e citotoxicidade para os queratinócitos fazem diminuir a sua eficácia.</p> <p>Actualmente esforços têm sido desenvolvidos para que se criem alternativas que não comprometam a cicatrização, necessitem de menos mudanças de penso e minimizem as resistências, procurando novos métodos de aplicação para antibióticos de uso bem estabelecido.</p>	<p>Organismos Multiresistentes constituem o principal desafio.</p> <p>Fisiologia alterada leva a menores concentrações do fármaco resultando em falência da terapêutica e consequente emergir de resistências.</p>

Controlo da Infecção – novos avanços

Novo paradigma no tratamento de queimaduras e infeções

NANOTECNOLOGIA

Aumenta a efectividade do tratamento

➔

Atividade antimicrobiana contra microorganismos resistentes

➔

Proporciona melhor regeneração dos tecidos.

Controlo da Infecção – novos avanços

NANOTECNOLOGIA

Nanopartículas Orgânicas

Incorporação do quitosano, polímero natural e biodegradável usado como agente profilático que previne a progressão das infeções e acelera o processo de regeneração dos tecidos. Além disso, potencia a função anti-inflamatória das células e estimula fibroblastos.

Dendrimeros

Os grupos funcionais à superfície, por si só, têm ação antibacteriana – são carregados positivamente interagindo com a membrana carregada negativamente das bactérias levando a sua ruptura.

Ainda, dendrimeros solúveis em água podem ser utilizados para aumentar a biodisponibilidade e assim aumentar a eficácia de antibióticos insolúveis em meio aquoso.

Dendrimeros associados a prata demonstraram efeitos sinérgicos em termos anti-inflamatórios e antimicrobianos. São então veículos ideais para diminuir a inflamação e ao mesmo tempo combater a infecção e estimular a regeneração.

Controlo da Infecção – novos avanços

NANOTECNOLOGIA

Nanopartículas Inorgânicas

Nanopartículas metálicas AuNPs, CuNPs e AgNPs

As nanopartículas de prata demonstraram ser uma potencial alternativa a sulfadiazina de prata, para o tratamento das infeções sem causar citotoxicidade. Além do efeito antimicrobiano, podem ser adicionados outros componentes, por exemplo, a enxofarina no sentido de incluir propriedades anti-inflamatórias e actividade angiogénica para o tratamento das feridas.

Controlo da Infeção – novos avanços

Terapia Biológica

Imunoterapia passiva:
Baseada no uso de anticorpos monoclonais humanizados que reconhecem factores de virulência responsáveis pelo rápido movimento das bactérias que facilitariam a invasão dos tecidos.

Peptídeos Antimicrobianos:
Naturalmente produzidos por diversos organismos; aderem e destroem a membrana celular carregada; suprimem a geração de moléculas importantes como proteínas e ácidos nucleicos assim inibindo o crescimento dos microorganismos.

Microorganismos Terapêuticos:
Actividade contra o crescimento, adesão às células hospedeiras e formação do biofilme. Por exemplo, *Bdellovibrio bacteriovorus* que se replica no interior de bactérias Gram negativas induzindo a sua morte.

Controlo da Infeção – novos avanços

Fototerapia e Ultrassons

Fototerapia:
Alternativa minimamente invasiva, que pode ser utilizada para melhorar a infeção e otimizar o processo de cura de queimaduras. Por exemplo, a **radiação UV** causa danos nos ácidos nucleicos e induz repressão da replicação dos micro-organismos.

Tem interesse também na **regeneração dos tecidos:**
LLLT não tem ação térmica nem antimicrobiana mas aumenta a proliferação celular, modula a inflamação e acelera a re-epitelização da pele danificada.

Ultrassons:
Permite controlar a extensão da necrose dos tecidos, acelera o fecho da ferida além de que estudos sugerem efeitos benéficos nas fases inflamatória e proliferativa das queimaduras.

Cicatrização

Cicatrização quelóide e hipertrofica causa significativa morbidade frequentemente com resultados pouco estéticos e com baixa funcionalidade.

Levam a vários fatores debilitantes

- dor
- prurido
- despigmentação
- intolerância ao calor
- limitações no movimento

O principal desafio é encontrar novos alvos terapêuticos através da melhor compreensão da formação de cicatrizes.

Cicatrização – abordagem farmacológica

Silicone	Gold Standard para o tratamento não invasivo de cicatrizes hipertroficas.	Difícil de usar em áreas anatómicas sujeitas a muito movimento (articulações).	Para contornar isso, gel de silicone que forma uma película fina transparente.
Corticosteróides	Injeção em pequenas cicatrizes hipertroficas é primeira-linha desde 1960. Reduzem a altura e volume das cicatrizes, diminuem a dor e o prurido e tornam as cicatrizes mais flexíveis.	No entanto, dose ótima ainda não foi estabelecida e apresenta efeitos secundários como hipopigmentação e atrofia subcutânea.	Recentemente, a associação de Triancinolona (corticoesteróide de longa ação) ao 5-fluorouracilo mostrou diminuir os efeitos secundários.
Toxina Botulínica	Inibe a contração muscular, apresenta grande potencial como ferramenta adicional para melhorar a formação de cicatrizes – diminui as forças mecânicas e assim a tensão na ferida.	Os estudos têm sido focados no papel da toxina em melhorar cicatrizes existentes permanecendo incerto se tem algum papel na prevenção da sua formação.	

Cicatrização – Células Estaminais

As células estaminais endógenas migram para o local da lesão durante a fase inflamatória inicial onde desempenham efeitos imunomoduladores, de aceleração do fecho da ferida, angiogénese e re-epitelização.

Células estaminais mesenquimais	Efeitos positivos na redução da cicatrização hipertrofica por redução da expressão dos marcadores de miofibroblastos e down regulation da síntese de colagénio. Ainda, caracterizam-se por dois fenótipos distintos, M1 pro-inflamatório e M2 anti-inflamatório. Esta polarização é mediada por receptores diferentes, que respondem a diferentes substâncias na matriz extracelular e promovem alternância entre os dois fenótipos dependendo das necessidades do organismo.
Células estaminais de tecido adiposo	Potencial para regenerar a hipoderme, derme e epiderme. Tem sido estudada a sua utilidade na regeneração de tecidos e diminuição de cicatrização hipertrofica pela sua capacidade de remodelação derivada de um perfil único de citocinas e factores de crescimento.

A sua combinação com hidrogéis é considerado um método inovador para promover um efeito de 'suturas' e acelerar o fecho da ferida.

Conclusão

Problema altamente complexo

- Elevada suscetibilidade a infeções microbianas
- Necessidade de um rápido e satisfatório tratamento das feridas
- Evitar cicatrização indesejável

Representam os desafios que se pretendem colmatar com os novos desenvolvimentos.

Novas alternativas como microorganismos terapêuticos, fototerapia antimicrobiana e diferentes tipos de terapêuticas biológicas têm vindo então a ser exploradas.

Não menos importante, com o elevado desenvolvimento de resistências, novas abordagens como a aplicação da nanotecnologia têm sido desenvolvidas para oferecer novas estratégias na resolução deste problema.

Ainda, as propriedades únicas das células estaminais associadas a nanoestruturas para aplicação nas áreas afetadas resultando em inibição de proliferação microbiana, modulação da resposta imune e aceleração do processo de regeneração dos tecidos têm dado insight que se pensa levar a grandes avanços no tratamento das queimaduras.

Por fim, a imensa pesquisa e esforços desenvolvidos nos últimos anos trazem esperança para futuro progresso nesta área, recorrendo então as abordagens inovadoras mencionadas.

Anexo VI. Composição do carro de emergência da Neurologia A.

CARRO DE EMERGENCIA NEUROLOGIA A	
CHECK-LIST	
TABULEIRO SUPERIOR	
Ambú + máscara + filtro bacteriostático + balão	1
Máscaras faciais Nº 3	1
Nº4	1
Recipiente para cortantes	1
Desfibrilhador	1
Gel ultrassons	1
Elérodos de monitorização (saco)	1
1ª GAVETA- TERAPÊUTICA	
Ácido Acetilsalicílico 100mg (cp)	3
Adenosina 6 mg (amp)	5
Adrenalina 1mg (amp)	10
Água bidestilada 20cc (amp)	6
Aminofilina 240 mg (amp)	3
Amiodarona 150mg (amp)	5
Atropina 0,5mg (amp)	10
Bicarbonato de Sódio 8.4 % 20ml (amp)	2
Captopril 25mg (cp)	5
Clemastina 2 mg (amp)	3
Clonazepam 1 mg (amp)	6
Cloreto de Cálcio 10% (amp)	2
Cloreto de potássio 7,45% (amp)	3
Cloreto de sódio 10cc (amp)	5
Diazepam 10 mg (amp)	5
Diazepam 5 mg (rectal)	2
Digoxina 0,25 mg (amp)	3
Dinitrato de Isossorbido (DNI) (amp)	4
Dobutamina 250 mg (amp)	2
Dopamina 200 mg (amp)	5
Furosemida 20 mg (amp)	15
Flumazenil 5 mg (amp)	4
Glucose 30% 20cc (amp)	2
Gluconato de Cálcio 10%	4
Heparina Sódica	2
Hidrocortisona 100 mg (amp)	5
Labetalol 100 mg (20ml) (Frasco)	2
Lidocaína 1% (frasco)	1
Lidocaína 2% (frasco)	1
Midazolam 15mg (amp)	4
Naloxona 400mcg (amp)	4
Nitroglicerina 0,5mg (cp)	4
Noradrenalina 1mg/ml	2
Obidoxina 250 mg (amp)	5
Propofol 1%	2
Propofol 2%	2
Brometo Ipratrópio neb. (0,25 mgmg/2ml) (amp)	4
Solu-medrol 125 mg (amp)	4
Solu-medrol 1 Gr	1
Sulfato de Magnésio 20% (amp)	3
2ª GAVETA - PUNÇÃO VENOSA	
Seringa irrecuperável 1cc	5
2cc	5
5cc	5
10cc	5
20cc	5
Agulhas irrecuperáveis IM (0,8x40mm)	10
IV (0,9x25mm)	10
SC (0,5x16mm)	10
Diluição injectáveis (1,2x40mm)	10
Agulha epicraniana 0,8x20mm 21G	3
Adaptador de Membrana	3
Catéter IV CH20	4
Catéter IV CH22	4
Catéter IV CH24	4
Garrote	1
Obturador	5
Prolongadores Simples	3
Prolongadores com torneira	3
Torneiras de 3 vias	4
Sistemas de Soros	5
Sistemas de Soros com regulador de Gotas	2
Sistemas perfusora Braun	2
Adesivo Hipoalergénico	1
Adesivo comum	1
Lâminas de Tricotomia	2
Pensos Tegaderm Filme	10
Pensos Rápidos	10
Transfer	2
Lancetas	6
Máquina de glicémia	1
Fitas de glicémia (frasco)	1
Seringa gasometria	1
3ª GAVETA - CATETERISMO CENTRAL	
Luvas Esterilizadas nº7	1
Luvas Esterilizadas nº 7.5	1
Luvas Esterilizadas nº 8	1
Soro Fisiológico 0,9% 100 ml	1
Seringas de 10 cc	2
Seringas de 20 cc	2
Agulhas EV/IM/SC/Diluição (Cada)	2
Laminas Bisturi	5
Sedas 3/0	2
Sedas 2/0	2
Lidocaína 2% (Frasco)	1
Lidocaína 1% (Frasco)	1
Cabo Bisturi	1
Cateter Central 2 vias	2
Cateter Central 3 vias	1
Campo Esterilizado	1
Kit Pensos	1
Películas impermeáveis	5
Seringas Infusoras	2
4ª GAVETA - ENTUBAÇÃO TRAQUEAL	
Laringoscópio:	
Cabo normal	1
Lâminas de laringoscópio Curva nº 2	1
Curva nº 3	1
Curva nº 4	1
Tubo endotraqueal com cuff	
Nº 6,5	2
Nº 7	2
Nº 7,5	2
Nº8	2
Nº 8,5	2
Guia ou condutor p/ adulto	1
Pinça Maguil	2
Gel lubrificante	1
Fita de nastro ou outro sistema de fixação	1
Lanterna	1
Pilhas Laringoscópio	2
Cânula Traqueotomia	2
Tubos de Mayo nº 2,3,4	1
Luvas esterilizadas nº6,5/7/7,5/8 (cada)	2
Seringa 20cc	1
Sondas de O2	5
Sondas de aspiração	10
Mascara Venturi	1
Mascara com Nebulizador	1
5ª GAVETA - CATETERISMO GÁSTRICO	
Sonda Nasogástrica Latex Ch 16	2
Sonda Nasogástrica dupla Via Ch 18	2
Seringa estéril 100ml	1
Clamp SNG	2
Luvas Esterilizadas nº6,5/ 7/7,5 (cada)	1
Saco coletor com capacidade para 2 litros	2
Gel lubrificante	1
Adesivo hipoalergénico (rolo)	1
Estetoscópio	1
5ª GAVETA - CATETERISMO VESICAL	
Sonda vesical tipo Foley Ch 14	2
Ch 16	2
Ch 18	2
Ch 20	2
Sonda Supra Púlica Ch 12	1
Sonda Vesical 3 vias Ch 22	1
Saco coletor de urina com capacidade de 2 litros	2
Kit Cateterismo Vesical	1
Luvas cirúrgicas nº 6,5/7/7,5 (cada)	1
Água bidestilada 20ml	2
Seringa estéril 20cc	2
Gel lubrificante estéril	2
GAVETA LATERAL DIREITA INFERIOR	
Água destilada 1000 ml	1
Gelofundina 500 ml	1
Soro Fisiológico 0.9% 1000 ml	1
Soro Fisiológico 0.9% 500 ml	1
Soro Fisiológico 0.9% 100 ml	1
Glicose 5% 100 ml	1
Voluven 500 ml	1
Manitol 20% 250 ml	1
Bicarbonato de Sódio 8,4% 100ml (Frasco)	4
GAVETA LATERAL DIREITA SUPERIOR	
Luvas esterilizadas nº6,5/7/7,5/8	2
Luvas Plástico Estéril	10
Luvas látex L- caixa	1
Compressas esterilizadas pequenas, médias	4
Máscaras Faciais	10
Máscara com viseira	4
GAVETA LATERAL ESQUERDA SUPERIOR	
Betadine espuma	1
Betadine Dérmico	1
GAVETA LATERAL ESQUERDA INFERIOR	
Sistema de Aspiração	1
Balde lixo	1
Vacuómetro	1
Debitómetro	1
Bala de O2	1
Regras de Ouro:	
- Reposição após cada utilização;	
- Verificação semanal (noite domingo);	
- Testa desfibrilhador e bala de O2 semanal;	
- Manter carro selado;	

Parte III

O Uso de Oligonucleótidos *Antisense* em Doenças Neurodegenerativas. Enfoque na *Atrofia Muscular Espinhal*.

Resumo

A Atrofia Muscular Espinhal (AME) é uma doença neuromuscular, autossômica recessiva, caracterizada pela degeneração dos neurónios motores alfa que se traduz em perda progressiva da função muscular. Na sua forma mais severa, AME tipo I, é a principal causa de morte genética infantil, com uma incidência de 1 em cada 10 000 nascimentos, com a maioria das crianças afetadas a não atingirem os 2 anos de idade. Até recentemente, como se verifica ainda com a maioria das doenças neurodegenerativas, a AME permanecia sem alternativas terapêuticas eficazes, capazes de abrandar ou mesmo inibir a progressão desta doença devastadora.

No entanto, o seu mecanismo genético único suscitou atenção entre cientistas que, reunindo esforços de diversas áreas e enorme incentivo por parte da comunidade de apoio à AME, culminou na histórica aprovação do primeiro tratamento modificador da doença, por autoridades Americanas e Europeias, o *nusinersen*. O *nusinersen*, agora comercializado sob o nome de Spinraza[®], é um oligonucleótido *antisense* desenhado para interagir especificamente com um defeito genético localizado no cromossoma 5, e assim, por modulação do *splicing*, restaurar a produção da proteína de sobrevivência do neurónio motor, SMN, cuja deficiência em doentes com AME é a conhecida causa do seu fenótipo. Esta aprovação veio, não só dar esperança ao desenvolvimento de terapêuticas eficazes nesta área ainda tão carecida de alternativas, mas também validar o potencial terapêutico dos oligonucleótidos *antisense* e a sua capacidade de atuar no Sistema Nervoso Central.

A presente monografia pretende focar-se nas descobertas fundamentais que tornaram plausível a aplicação de oligonucleótidos *antisense* no tratamento de doenças neurodegenerativas, assim como nos desenvolvimentos que permitiram uma mais profunda compreensão dos mecanismos subjacentes à AME, e que, conjuntamente, possibilitaram, pela primeira vez na história desta doença, chegar à aprovação de um novo e promissor tratamento farmacológico.

Palavras-chave: doenças neurodegenerativas, atrofia muscular espinhal, *SMN1*, *SMN2*, oligonucleótido *antisense*, *nusinersen*, proteína de sobrevivência do neurónio motor, SMN.

Abstract

Spinal Muscular Atrophy (SMA) is a neuromuscular, autosomal recessive disease, characterized by the degeneration of motor neurons α leading to progressive loss of muscular function. In its most severe form, SMA type I is the number one cause of genetic infant death, with an incidence of 1 in each 10 000 births, with most of the children affected not surviving to be more than 2 years old. Until recently, as most neurodegenerative diseases, SMA remained with no effective alternatives, capable to slow down or inhibit the progression of this devastating disease.

However, its unique genetic mechanism sparked attention amongst scientists, that gathered efforts from different areas and enormous incentive from SMA's support community, that led to the historical approval of the first disease modifying treatment, by American and European authorities, *nusinersen*. *Nusinersen*, now commercialized as Spinraza[®], is an *antisense* oligonucleotide designed to interact specifically with a genetic defect located in chromosome 5, modulating splicing and therefore restore the production of the survival motor neuron protein, SMN, whose deficiency in SMA patients is known to be the cause of its phenotype. This approval, not only raised hope regarding the development of effective therapeutics in this area but also validates the therapeutic potential of *antisense* oligonucleotides and its ability to act in the Central Nervous System.

The present paper is intended to focus on the fundamental discoveries that made plausible the use of *antisense* oligonucleotides in the treatment of neurodegenerative diseases, as well as the developments that allowed a deeper comprehension of SMA subjacent mechanisms, that jointly, and for the first time in the history of this disease, made the approval of a new and promising pharmacological treatment possible.

Key words: neurodegenerative diseases, spinal muscular atrophy, SMN1, SMN2, antisense oligonucleotide, *nusinersen*, survival motor neuron, SMN.

Lista de abreviaturas

2MOE – 2'-O-metoxietil

2OMe – 2'-O-metil

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

AME – Atrofia Muscular Espinhal

AON – *Antisense Oligonucleotide*; Oligonucleótido Antisense

ARN – Ácido Ribonucleico

ARNm – Ácido Ribonucleico mensageiro

BHE – Barreira Hemato-Encefálica

CMV – Citomegalovírus

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

EMG – Eletromiografia

FDA – *Food and Drugs Administration*

ISS-NI – *Intronic Splicing Silencer NI*; Silenciador Intrónico do Splicing NI

IT – Intratecal

IV – Intravenosa

JNM – Junção Neuromuscular

LCR – Líquido Cefalorraquidiano

LNA – *Locked Nucleic Acid*; Ácido Nucleico Fechado

PCR – Polymerase Chain Reaction

PMO – *Phosphoroamidates Morpholino Oligomer*; Fosforoamidato Morfolínico

PNA – *Peptidic Nucleic Acids*; Ácidos Nucleicos Peptídicos

PS – *Phosphorothioate*; Fosforotioato

RSV – *Rous Sarcoma Virus*; Vírus de Sarcoma de Rous

SMN – *Survival Motor Neuron*; Sobrevivência do Neurónio Motor

SMN1 – Gene codificante da proteína SMN

SMN2 – Gene codificante da proteína SMN

SNC – Sistema Nervoso Central

snRNPs – *Small Nuclear Ribonucleoproteins*; Pequenas Ribonucleoproteínas Nucleares

SNS – Serviço Nacional de Saúde

SSO – *Splice Switching Oligonucleotide*; Oligonucleótidos Modificadores do Splicing

Introdução

A histórica descoberta do ADN como material genético por Avery *et al.*, em 1944, seguida da descrição da sua estrutura helicoidal por Watson e Crick em 1953, lideraram o caminho para o atual conhecimento e uso de ácidos nucleicos, incluindo o desenvolvimento de terapêuticas oligonucleotídicas.¹

O início da década de 70 testemunhou aquele que é hoje considerado o nascimento da terapia *antisense*.¹ Paul Zamecnik e Mary L. Stephenson conduziram uma experiência, procurando explorar a possibilidade de um oligonucleótido, complementar aos 13 nucleótidos que reiteram as sequências terminais do vírus de sarcoma de Rous (RSV), agir como inibidor competitivo da hibridização e assim interferir na produção de vírus e transformação das células. Os resultados obtidos permitiram observar que ocorre hibridização entre o tridecamero sintético e o ARN do oncornavírus, suportando assim a inferência de que este *annealing* pode inibir a integração do ADN específico do vírus no ADN do hospedeiro ou interferir com a translação de proteínas virais.^{2,3} Em 1978, os autores reportaram na revista científica *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A* que a adição de um 13-mer oligonucleótido seria capaz de inibir o RSV em culturas de células infetadas, sugerindo pela primeira vez o uso de oligonucleótidos como potencial mecanismo para quimioterapia e inibição de translação de proteínas específicas da célula.^{1,2}

Após observação da regulação *antisense*, mediada pelo ARN na natureza, seguiram-se várias investigações que procuraram explorar a viabilidade de utilizar oligonucleótidos *antisense* (AONs) sintéticos para reduzir os níveis de transcrição de ARNm específicos, demonstrando que estes eram eficazes em diminuir a transcrição do alvo e consequentemente a síntese proteica.⁴

O desenvolvimento clínico dos AONs começou em 1993, com o primeiro ensaio clínico de fase I em humanos, que utilizava AONs com o intuito de inibir a transcrição da fosfoproteína *p53* em doentes com leucemia mieloide aguda recidivante ou refratária ou síndrome mielodisplásica.¹

No entanto, apesar de resultados iniciais promissores, o uso de AONs como terapêutica clínica foi sendo travado por vários desafios técnico-científicos e o seu progresso tem sido lento.⁴

Foi só após 20 anos de pesquisa e investigação clínica que, a 24 de agosto de 1998, a *US Food and Drug Administration* (FDA) aprovou o primeiro AON, o *formivirsen*, desenvolvido pela Isis Pharmaceuticals Inc. Este AON destinava-se a ser administrado por injeção intravítrea para o tratamento de retinite por citomegalovírus (CMV), que afeta

principalmente doentes co-infetados com Síndrome de Imunodeficiência Humana Adquirida. No entanto, devido à melhoria na eficácia dos antirretrovirais, a retinite por CMV deixou de ser um problema tão grave nesta população, levando à sua retirada do mercado poucos anos depois.^{1,3,5}

Desde a aprovação para uso clínico do primeiro AON, o panorama na área da terapia genética evoluiu consideravelmente (Figura I) com o avanço das novas tecnologias, crescente compreensão das modificações químicas necessárias à sua eficácia e a forma como estas influenciam os seus diferentes mecanismos de ação, enaltecendo o seu potencial efeito terapêutico em diferentes patologias humanas.

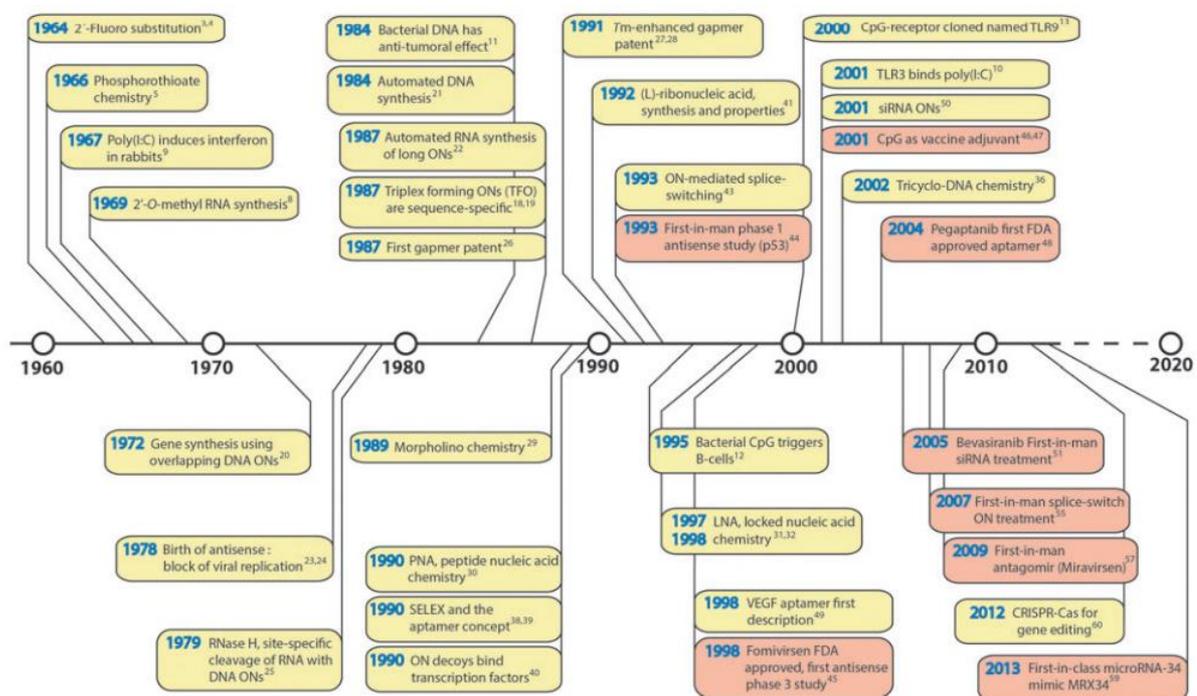


Figura I. História das terapêuticas oligonucleotídicas: biologia e química com fundo amarelo e aplicações clínicas com fundo coral.¹

Recentemente, avanços na estrutura química dos AONs, adaptações no seu *design* para aperfeiçoar a segurança e distribuição, e ensaios clínicos cientificamente controlados para averiguar a eficácia e segurança terapêutica, levam-nos a uma era em que é plausível a aplicação desta tecnologia para tratar doenças neurodegenerativas, até agora incuráveis, como é o caso da Atrofia Muscular Espinhal (AME), objeto deste trabalho.⁵

O termo doenças neurodegenerativas refere-se a uma gama de patologias que afetam primeiramente os neurónios do cérebro humano, das quais se destacam doenças como a doença de Alzheimer, a de Huntington ou o Parkinson, que afetam milhões de pessoas a

nível mundial. Os neurónios, *building blocks* do sistema nervoso, não se reproduzem ou substituem a eles próprios e, por isso, quando danificados, não podem ser substituídos pelo organismo. Assim, as doenças neurodegenerativas resultam da progressiva degeneração das células nervosas, que resulta eventualmente na sua morte.⁶ A escassez de alternativas terapêuticas capazes de tratar, ou mesmo apenas abrandar, a progressão destas doenças, permanece um dos principais desafios da Medicina atual.⁷

Nesta gama de doenças neurodegenerativas inclui-se a AME, uma doença rara, que apesar da sua elevada incidência na população, principalmente pediátrica – 1 em cada 10 000 nascimentos – recebeu relativamente pouca atenção entre investigadores.⁸ No entanto, pelo seu perfil genético único, veio a ganhar maior destaque, estando atualmente na vanguarda de uma nova era de tratamentos neurológicos, proporcionado pela demonstração de efeitos clinicamente significativos de um oligonucleótido *antisense*, o *nusinersen*, com a maioria dos participantes em ensaios clínicos a sobreviverem além do que seria expectável, pela história natural da doença.⁹

A AME é a causa número um de morte genética infantil. É uma grave doença neuromuscular, autossómica recessiva, caracterizada pela degeneração dos neurónios motores alfa na medula espinhal, que resulta em progressiva fraqueza muscular.¹⁰ Foi descrita pela primeira vez em 1890, por Werdnig e Hoffman mas o defeito genético localizado no cromossoma 5 foi apenas detetado um século depois, com a identificação do gene de sobrevivência do neurónio motor (SMN) como o gene causador da doença, em 1995.¹¹ Hoje, 20 anos após a descoberta do defeito genético, foi atingido um enorme marco na AME e panorama geral das doenças neurodegenerativas, com a aprovação do primeiro tratamento modificador da doença para a AME por autoridades Americanas e Europeias – o oligonucleótido *antisense*, *nusinersen*.¹²

Objetivos

A presente monografia pretende analisar os desenvolvimentos e marcos imprescindíveis que permitiram esta aprovação, em dezembro de 2016, pela FDA e, posteriormente, em maio de 2017, pela Agência Europeia do Medicamento (EMA), através de uma revisão que abarca desde a descoberta dos oligonucleótidos *antisense* como agentes terapêuticos, à sua potencial utilização em doenças neurodegenerativas, assim como os avanços demonstrados em ensaios clínicos que desafiaram o curso normal destas patologias, culminando na aprovação do primeiro tratamento com capacidade para alterar a história natural da AME.

Métodos

Pesquisa bibliográfica na base de dados Medline através do operador Pubmed utilizando as seguintes palavras-chave: doenças neurodegenerativas, atrofia muscular espinhal, *SMN1*, *SMN2*, oligonucleótido *antisense*, *nusinersen*, proteína de sobrevivência do neurónio motor, SMN.

Resultados

I. Oligonucleótidos *antisense*: do passado ao presente.

Os nucleótidos são os blocos construtores do ADN e ARN encontrados em todos os organismos vivos.⁵ O mais simples e inalterado nucleótido é o fosfodiéster, constituído por três componentes essenciais: uma base azotada, um açúcar, e um grupo fosfato.¹³

Os AONs são sequências de ácidos nucleicos sintéticas, relativamente curtas, de cadeia simples, que se ligam ao ARN por complementaridade de bases, com capacidade para interferir com a expressão génica, por inibição ou modulação da expressão do ARNm alvo.^{14,15}

Inicialmente, os AONs eram utilizados na forma de ADN sintético não modificado.¹⁶ No entanto, estes eram extremamente suscetíveis à degradação por endo e exo-nucleases, apresentavam baixa solubilidade e dificuldade de permeação das membranas,¹³ tornando-se evidente que para ser possível a sua aplicação clínica, o seu perfil farmacológico precisaria de ser melhorado.

Apesar do potencial dos AONs ter sido óbvio há décadas atrás, o desenvolvimento desta nova classe de fármacos enfrentou enormes e óbvios obstáculos. A síntese de oligonucleótidos terapêuticos exigiu dezenas de alterações químicas incrementais ao longo das últimas três décadas, necessitando cada passo deste percurso de ser aperfeiçoado ao nível da eficiência, e não menos importante, do reconhecimento do alvo no interior das células, sem efeitos fora desse alvo.⁵

Desde então, os oligonucleótidos têm beneficiado dos avanços na modificação da sua estrutura química, levando a uma melhoria considerável nas suas características,¹⁵ nomeadamente no que respeita à sua estabilidade, afinidade e propriedades farmacodinâmicas.¹⁷

I.1. Modificações estruturais

Relativamente à base destas modificações, os AONs podem ser classificados em três gerações distintas: AONs com alteração no grupo fosfato, aqueles que apresentam a modificação no açúcar e os AONs com a estrutura principal alterada. Em todas as gerações a base permanece inalterada uma vez que é o componente responsável pela ligação complementar ao ARNm alvo.¹³

I.1.1. Primeira geração de oligonucleótidos *antisense*

A lógica que presidiu à modificação desta primeira geração foi a necessidade de reduzir a degradação por ação das nucleases. Este feito foi conseguido pela substituição de um dos átomos não ligantes de oxigénio de cada grupo fosfato ao longo da cadeia do oligonucleótido, por um átomo de enxofre, originando os fosforotioatos, um grupo metil – metilfosfonatos – ou uma amina – fosforamidatos.^{5,16}

A substituição do fosfodiéster pelo fosforotioato (PS) foi uma das primeiras modificações bem-sucedidas ao proporcionar um bom grau de proteção à degradação pelas nucleases,¹⁵ de forma a que, após administração, estes possuam estabilidade suficiente no plasma, tecidos e células para alcançar o ARN alvo.¹⁸

Esta modificação estrutural tornou-se a mais comumente utilizada,^{5,16,18} não só pela aumentada resistência à degradação, mas também pelo benefício farmacocinético proporcionado. Os fosforotioatos apresentam um aumento da ligação às proteínas plasmáticas, prevenindo que sejam rapidamente excretados pelo rim e havendo assim uma melhoria no tempo de meia-vida do fármaco. Além disso, ao serem carregados negativamente, permitem um melhor *uptake* pelas células, comparativamente aos metilfosfonatos, por exemplo, que são neutros.^{5,15,18}

Outro fator crítico do fosforotioato é a capacidade de desencadear a ação da enzima RNase-H, permitindo a sua utilização quando a *down-regulation* do ARNm alvo é desejável, sendo esta uma característica indispensável ao mecanismo de ação de muitos fármacos *antisense*.^{5,15,18}

Apesar de serem os oligonucleótidos mais amplamente utilizados, os fosforotioatos apresentam algumas características que lhes conferem propriedades sub-óptimas enquanto moléculas *antisense*. Esta estrutura exerce por vezes uma inibição não específica, independente da sequência nucleotídica, atribuída à sua afinidade dependente de comprimento para várias proteínas celulares, especialmente fatores de crescimento ligados à

heparina, desencadeando forte ativação das plaquetas, agregação e formação de trombos em modelos animais e *in vivo*, levantando questões acerca da sua segurança em humanos.^{5,16,19}

Da necessidade de ultrapassar esses efeitos não específicos desta primeira geração de oligonucleótidos, de melhorar ainda a resistência à ação das nucleases e a afinidade da ligação ao alvo, surgiu a segunda geração.⁵

1.1.2. Segunda geração de oligonucleótidos *antisense*

A segunda geração de modificações ao nível da estrutura dos oligonucleótidos, com crescente importância no seu mecanismo de ação, envolve a ligação do carbono na posição 2' do açúcar a um grupo *O*-alquilo.¹⁶ Esta modificação, em combinação com as alterações no grupo fosfato, demonstraram enorme importância no melhoramento das propriedades farmacológicas e da sua segurança.

Dentro desta classe de modificações, a 2'-*O*-metil (2OMe) e a 2'-*O*-metoxietil (2MOE) têm sido as mais bem-sucedidas e amplamente utilizadas,^{13,15} com vários oligonucleótidos contendo esta alteração a entrar em ensaios clínicos.^{18,20}

Estas alterações conformacionais, não só demonstraram um aumento na afinidade de hibridização para o seu ARN alvo, comparativamente aos oligonucleótidos não modificados, como uma maior resistência à degradação pelas nucleases e capacidade para reduzir a toxicidade independente da sequência, decorrente das propriedades estruturais do fosforotioato.^{13,15}

Esta segunda geração de oligonucleótidos compreende então as modificações realizadas ao nível do açúcar, incluindo-se nesta categoria os *locked nucleic acids (LNA)*, “ácidos nucleicos fechados”, assim denominados pelo facto de o quarto carbono se encontrar ligado ao grupo hidroxilo da posição 2 que, comparativamente às alterações anteriormente referidas, lhes confere melhor capacidade de hibridização.^{15,21}

Uma importante característica destas variações é que, essencialmente, todas as modificações nesta posição diminuem largamente ou mesmo inibem completamente a clivagem pela RNase-H sendo assim incapaz de mediar a *down-regulation* do ARNm alvo, por ativação deste mecanismo. Assim, exercem a sua ação por meio de um impedimento estérico, oferecendo esta alternativa maior flexibilidade para uso em situações que não requeiram mecanismos mediados pela enzima, como por exemplo, aqueles que alteram o *splicing* do ARNm.^{18,20}

1.1.3. Terceira geração de oligonucleótidos *antisense*

Da terceira geração de AONs destacam-se os ácidos nucleicos peptídicos (PNA) e os morfolinos (PMO). Os PNA são gerados por substituição do açúcar-grupo fosfato por um polímero peptídico; os PMO apresentam um anel morfolínico no lugar do anel de ribose e ligações fosforamidas em vez de ligações fosfodiéster.²²

Apesar da sua maior estabilidade biológica devido à maior resistência às nucleases e peptidases, e demonstrada afinidade para o ARNm alvo, estes oligonucleótidos de terceira geração, à semelhança do que acontece com os de segunda geração, não têm capacidade para ativar a RNase-H, sendo a sua ação ao nível de modulação da expressão génica atingida por impedimento estérico, assim independente da ação da enzima.^{13,23}

Além disso, pelo facto de serem quimicamente neutros, o seu *uptake* pela célula é dificultado, apresentam baixa solubilidade e baixa ligação às proteínas plasmáticas, sendo então rapidamente eliminados.²⁴ Estas propriedades farmacocinéticas pouco favoráveis explicam, em parte, a sua limitada utilização *in vivo* até hoje.¹⁵

1.2. Mecanismos de ação dos oligonucleótidos *antisense*

Os AONs podem ser utilizados para restaurar a expressão de uma proteína, reduzir a expressão de uma proteína tóxica, modificar os seus efeitos funcionais ou reduzir a toxicidade originada por proteínas mutantes pois modulam a expressão dos genes por diversos mecanismos, conforme as suas propriedades químicas e seu local de ligação.²²

Assim, relativamente aos seus mecanismos de ação, podem ser separados essencialmente em duas categorias: dependentes da ação da RNase-H, que induz a degradação do ARNm alvo; os que causam um impedimento estérico, modulando o *splicing* e consequentemente a translação proteica.¹⁶

1.2.1. Degradação mediada pela RNase-H

O mecanismo mais comumente utilizado em estratégias *antisense* é precisamente a *down-regulation* do ARNm alvo por degradação pela RNase-H.

Como referido anteriormente, estes AONs devem apresentar pelo menos uma porção não modificada no segundo carbono do açúcar, uma vez que a sua alteração ao longo de toda a cadeia do oligonucleótido impede o recrutamento da enzima.

A RNase-H é uma enzima ubíqua que reconhece o heteroduplex ARN-ADN e hidroliza a banda de ARN libertando intacto o ADN.^{13,25,26}

Também quando um AON se liga ao ARNm alvo, ao formar um heteroduplex ARNm-AON leva à ativação da RNase-H. Este é considerado um potente mecanismo de inibição da expressão proteica uma vez que possibilita a degradação do ARNm alvo,^{13,27} enquanto deixa intacto o AON, permitindo assim que um único AON possa cataliticamente levar à clivagem de várias moléculas de ARNm.^{5,20}

1.2.2. Impedimento estérico

Recentemente, aplicações da terapia *antisense* que não induzem diminuição nos níveis de transcrição têm ganho maior destaque, com o aparecimento da modulação do *splicing* como terapia a ser primeiramente reportada em 2007.¹⁵

Dada a centralidade do *splicing* na expressão genética e a sua prevalente desregulação em várias patologias,¹⁷ este mecanismo de ação desempenha um papel de grande importância na regulação genética, na medida em que pode ser utilizado para restaurar a transcrição, remover mutações causadores de doença, alterar a proteína para uma isoforma menos tóxica,^{15,22} assim como inibir ou promover a expressão do ARN alvo.²⁰

Vários estudos demonstram a capacidade dos AONs de se ligarem a locais de corte no pre-ARNm, exões ou intrões, resultando na exclusão ou inclusão do exão alvo, alterando assim o padrão normal do *splicing*.²²

Estes AONs, denominados *splice switching oligonucleotides* (SSO), nucleótidos alteradores do *splicing*, são quimicamente modificados de forma a não recrutar a ação da RNase-H, sendo então capazes de modular o *splicing* sem necessariamente alterar a abundância do ARNm transcrito. Apresentam vários atributos chave, imprescindíveis à sua utilização como fármacos. São relativamente simples de sintetizar, são altamente específicos para o alvo devido ao facto de serem complementares a uma sequência específica e têm demonstrado boa tolerabilidade, particularmente ao nível do Sistema Nervoso Central (SNC), com efeitos duradouros *in vivo*.¹⁷

A regulação do *splicing* alternativo deve-se em grande parte à ligação diferencial das proteínas a sequências *cis-acting* na transcrição do pre-ARNm. Estas proteínas, dependendo da sua função e local de ligação relativamente a outros sinais de *splicing*, podem promover ou inibir o *splicing* em determinado local. Além disso, essas sequências são definidas pela sua localização seja ela num exão – potenciador/silenciador exónico – ou num intrão – potenciador/silenciador intrónico. Os SSOs são então desenhados para criarem um

impedimento estérico no local de ligação de fatores de *splicing* do pre-ARNm (figura 2). A sua ligação altera o reconhecimento dos locais de corte pelo *spliceossoma*, alterando o *splicing* normal do transcripto alvo.¹⁷

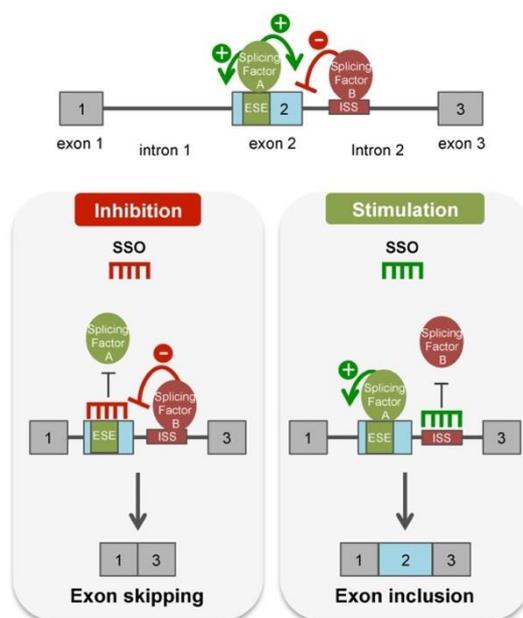


Figura 2. Os SSOs modulam o *splicing* alternativo. Os fatores de *splicing* (SF) bloqueiam (-) ou promovem (+) o *splicing* em lugares de corte adjacentes aos exões vizinhos. À esquerda: um SSO que se liga por complementaridade de bases a uma sequência potenciadora do *splicing* (ESE, a verde) cria um impedimento estérico à ligação dos fatores de *splicing* estimuladores (verde oval). Este impedimento impossibilita o *splicing*, resultando na exclusão do exão. À direita: em contraste, um SSO que se liga por complementaridade de bases a uma sequência silenciadora do *splicing* (ISS, a vermelho), bloqueia a atividade inibitória, por impedir a ligação de um fator de *splicing* negativo (vermelho oval). A perturbação desta ligação ativa o *splicing* no local que seria negativamente regulado pelo elemento silenciador, resultando na inclusão do exão.¹⁷

1.3. Biodisponibilidade e *uptake* dos AONs

Sendo o objetivo dos AONs tratar uma patologia humana, é imperativo que alcancem e hibridizem seletivamente com o ARN alvo, o que requer um tempo de meia-vida suficiente nos tecidos, uma apropriada biodistribuição, e um eficiente *uptake* pelas células.¹⁴

Quanto às suas propriedades farmacocinéticas, estas advêm essencialmente da estrutura química sendo assim independentes da sequência, dentro de cada classe química. A sua biodisponibilidade está fortemente associada à ligação às proteínas plasmáticas, o que limita a filtração glomerular e consequentemente a excreção dos AONs na urina.²⁸

A maioria dos ensaios clínicos utilizam a via de administração sistêmica que resulta numa distribuição dos AONs maioritariamente no fígado, rim, osso, medula, nódulos linfáticos e uma pequena parte nos adipócitos.^{24,28}

No entanto, a presente monografia prende-se com a aplicação desta classe de fármacos no tratamento de doenças neurodegenerativas, particularmente na AME, sendo por isso apenas explorada a forma como estes alcançam o SNC.

Distúrbios do SNC representam um dos principais focos da indústria farmacêutica, ainda com enormes necessidades não colmatadas.²⁸ Mas, atravessar a barreira hemato-encefálica (BHE) constitui um desafio para a descoberta e desenvolvimento de fármacos que atuem ao nível do SNC. A BHE, constituída por uma monocamada de células endoteliais, membrana basal e astrócitos ou células coróides que interagem formando *tight junctions*, ao mesmo tempo que desempenha um importantíssimo papel de proteção, limita a entrada e ação dos fármacos no cérebro.²⁹

Tanto o tamanho, como a carga dos AONs, impedem a sua distribuição além da barreira hemato-encefálica intacta complicando assim a sua aplicação em doenças neurodegenerativas.^{18,28} De forma a ultrapassar essa dificuldade, os AONs podem ser administrados diretamente no líquido cefalorraquidiano (LCR) – por administração intratecal (IT) – meio que rodeia o cérebro e a medula espinhal, permitindo uma eficiente distribuição dos AONs no SNC.³⁰

A concentração de fármaco no sangue, após administração direta no LCR, foi significativamente menor que a concentração observada por administração sub-cutânea ou intravenosa (IV), refletindo a menor dose que foi necessária administrar e que apenas uma percentagem do fármaco administrado, foi transferido para a circulação sistémica²⁸ – na verdade, as mesmas barreiras que dificultam a entrada dos fármacos no SNC, por outro lado, retêm os compostos terapêuticos após alcançarem o SNC.²⁴ Uma vez no SNC, as barreiras vasculares previnem a saída dos AONs para a circulação periférica evitando uma rápida excreção ou metabolização pelo fígado e rim, o que permite mais facilmente atingir concentrações clinicamente efetivas,¹⁵ possibilitando a administração de doses relativamente baixas e com menor frequência, assim minimizando os riscos de toxicidade.²⁴

A sua distribuição do LCR para os tecidos do SNC é rápida e o seu *uptake* pelos neurónios, incluindo neurónios motores, demonstrou forte atividade *antisense*.²⁸ Em ratos, os oligonucleótidos demonstraram um tempo de meia-vida muito superior quando administrados diretamente no cérebro, entre 71 a 206 dias, ou no LCR, entre 145 a 191, comparativamente a quando administrados por injeção intravenosa, em que o tempo de meia-vida foi entre 10 a 65 dias.¹⁵ No entanto, os AONs não se regeneram nas células e o seu tempo de meia-vida varia, dependendo da sequência e da sua estrutura química, tornando-se evidente a necessidade de repetidas administrações para sustentar os efeitos do tratamento.³¹

Apesar de ser consideravelmente mais invasiva que a administração sistémica, a administração por via IT tem demonstrado boa tolerabilidade e é comumente utilizada em outros procedimentos médicos.²⁰

O crescente interesse em associar os oligonucleótidos a transportadores que lhes permitam ultrapassar a BHE abre a esperança de que, no futuro, possam vir a ser administrados por injeção IV.²⁰ No entanto, atualmente, as estratégias desenvolvidas têm sido apenas modestamente bem-sucedidas. Além disso, a administração por via IT permite a utilização dos AONs livres, o que diminui o risco de reações de imunidade ativadas pelo transportador e permite um controlo mais preciso da dose.²³

Aliando os benefícios proporcionados pela administração IT, à ampla distribuição dos AONs pelo SNC e o rápido *uptake* pelas células neuronais, os AONs surgem, de facto, como uma enorme mais-valia no tratamento das doenças neurodegenerativas.¹⁴

2. Doenças Neurodegenerativas

As doenças neurodegenerativas caracterizam-se pela deterioração das células do sistema nervoso, os neurónios, no cérebro e na medula espinhal. Alterações nestas células levam a uma função deficiente das mesmas e resultam, eventualmente, na sua morte. À medida que os neurónios se deterioram, os sintomas iniciais podem ser discretos – dificuldade de coordenação ou falhas de memória. No entanto, quanto maior o número de neurónios perdidos, maior o agravamento dos sintomas, sendo a maioria destas doenças, fatais.³²

Apesar do enorme conhecimento alcançado ao longo dos últimos anos, avanços e esforços orientados no sentido de melhor compreender as causas subjacentes das doenças neurodegenerativas, é razoável afirmar que, a grande maioria destas doenças, permanece incurável.^{32,33}

Um dos principais desafios ao seu tratamento prende-se com o facto de o local de degeneração não ser acessível para estudo direto durante a vida, fator especialmente relevante em ensaios clínicos para novos tratamentos, uma vez que a medição da degeneração, e a sua diminuição, ou não, pelo agente terapêutico, é dificultada. Além disso, as doenças neurodegenerativas, caracterizam-se por uma longa fase pré-sintomática durante a qual a degeneração ocorre sem sintomas evidentes. Assim, potenciais tratamentos farmacológicos limitam-se a atuar nas células sobreviventes que podem não representar um substrato suficiente para a reversão da doença. No caso de doenças neurodegenerativas hereditárias, testes genéticos podem permitir identificar doentes ainda em fase pré-

sintomática. Mais importante, permite identificar o gene causador da doença e assim utilizá-lo como alvo terapêutico.³³

É o caso da AME, uma doença neurodegenerativa autossômica recessiva, que, como referido anteriormente, é causada por um defeito genético localizado no cromossoma 5, reportado em 1995, por S. Lefebvre *et al.*, que identificaram o gene de sobrevivência do neurónio motor (SMN) como o gene causador da doença.¹¹

Historicamente, assim como com a maioria das doenças neurodegenerativas, as terapias sugeridas para a AME têm sido essencialmente de suporte, dirigidas apenas a melhorar os seus sintomas, com nenhum efeito no processo que está na base do desenvolvimento da doença. No entanto, após décadas de pesquisa intensiva, os esforços culminaram na aprovação global do *nusinersen*, um oligonucleótido *antisense*, de nome comercial Spinraza[®], como primeiro tratamento modificador da doença para a AME.¹²

2.1. Atrofia Muscular Espinhal

A AME é causada em 95% dos doentes por uma deleção homozigótica/conversão no gene codificador da proteína de sobrevivência motora, o *SMN 1*, localizado no cromossoma 5q.^{34,35} Caracteriza-se pela degeneração dos neurónios motores alfa, que leva a um progressivo desgaste dos músculos e perda da função motora, não havendo alterações a nível cognitivo ou emocional.¹⁰

Na sua forma mais severa, é a principal causa genética de mortalidade infantil, com a maioria das crianças afetadas a não ultrapassar os 2 anos de idade.³⁵ Tem uma incidência estimada de 1 em 10 000 nascimentos, e estima-se que 1 em cada 40 adultos saudáveis, assintomáticos, seja portador do defeito genético.^{10,36}

2.1.1. Classificação e Descrição Clínica

Clinicamente, a AME pode ser classificada em quatro fenótipos diferentes, com base na idade em que surgiu a doença e nível de função motora atingido.

- a) Tipo I, Doença de Werdnig-Hoffmann: é a forma mais severa e comum da doença, tornando-se sintomática nos primeiros 6 meses de vida e geralmente levando à morte nos primeiros 2 anos. Doentes diagnosticados com este tipo não têm capacidade de se levantar ou sentar, e normalmente não têm controlo da cabeça.¹¹ Devido à fraqueza nos músculos do peito e pescoço, têm dificuldade em mastigar,

engolir e tossir. Assim, pela dificuldade em limpar as suas vias respiratórias, a sua morte resulta principalmente de falência respiratória e complicações de pneumonia.¹⁰

- b) Tipo II, Doença de Dubowitz: manifesta-se entre os 6 e os 18 meses e geralmente atingem a capacidade de se sentar, mas não de se levantar ou andar independentemente. Apesar de a esperança média de vida ser reduzida, principalmente devido a complicações respiratórias que requerem muitas vezes ventilação mecânica, este tipo de doentes pode viver até a idade adulta, embora com consideráveis incapacidades.^{11,12}
- c) Tipo III, Doença de Kugelberg-Welander: manifesta-se a partir dos 18 meses e inclui doentes clinicamente heterogêneos. Tipicamente atingem todos os marcos fundamentais da função motora, tal como andar independentemente, e têm uma esperança média de vida normal.¹² No entanto, durante a infância desenvolvem fraqueza muscular proximal, cuja gravidade pode variar desde a necessidade de utilizar cadeira de rodas a serem capazes de caminhar independentemente e viver a vida adulta com mínima fraqueza muscular. No caso dos doentes com menor mobilidade, frequentemente desenvolvem outras co-morbilidades, como escoliose, obesidade e osteoporose.^{11,37}
- d) Tipo IV: a forma mais ligeira de AME manifesta-se já na idade adulta. Este grupo, à semelhança dos doentes de tipo III, tem uma esperança de vida normal e modesta incapacidade comparativamente às restantes formas de AME. Pode manifestar-se por perda gradual de função muscular nas extremidades,¹⁰ geralmente com capacidade de caminhar e sem problemas respiratórios ou nutricionais.^{11,12}

2.1.2. Mecanismo genético da AME

Independentemente da severidade da doença, todos os fenótipos da AME são causados pelo mesmo defeito genético – deleção ou mutação do gene *SMN1* que leva a perda da expressão da proteína SMN.^{8,12}

Uma das razões que suscitou a atenção de investigadores e companhias farmacêuticas para a AME foi o seu perfil genético único. Em humanos, dois genes praticamente idênticos estão presentes no cromossoma 5q: o *SMN1* e o *SMN2*.¹¹

Os genes *SMN1* e *SMN2* apresentam uma sequência codificadora idêntica. No entanto, uma única mutação translacional silenciosa de uma citosina para uma timina, embora não altere a sequência de aminoácidos, resulta no *splicing* alternativo do *SMN2*.¹⁰⁻¹²

Normalmente, a transcrição do *SMN1* leva a um ARNm completo que origina a proteína completa e funcional SMN (294 aminoácidos, 32 kDa). Por outro lado, o *splicing* alternativo leva à remoção do exão 7 na transcrição do gene *SMN2*, resultando no encurtamento do ARNm que assim codifica a SMN na forma de uma proteína truncada e instável, a *SMN Δ 7* (282 aminoácidos, 30.5 kDa), que é rapidamente degradada.^{10,12} Assim, o *SMN2* é incapaz de compensar a perda do *SMN1*, uma vez que apenas uma pequena percentagem (aproximadamente 10%) do pre-ARNm transcrito retém o exão 7 após o *splicing*, o que resulta numa produção variável dos níveis de SMN na sua forma completa e funcional.¹¹

Os genes *SMN1* e *SMN2* estão localizados numa zona instável do genoma, que se manifesta numa variação do número de cópias de *SMN2* entre indivíduos. Todos os doentes possuem, pelo menos, uma cópia do gene *SMN2*; a inexistência de qualquer forma de SMN resulta em morte embrionária.¹² Estudos demonstram que este é um dos fatores determinantes na severidade e variabilidade da doença e sua diferente expressão entre doentes, permitindo estabelecer, de modo geral, uma correlação inversa entre o número de cópias de *SMN2* e severidade da AME.³⁸ Com o objetivo de determinar a possibilidade do seu uso como ferramenta complementar à avaliação do prognóstico, M. Feldkötter *et al.* desenvolveram um teste quantitativo rápido e fiável, tanto para o gene *SMN1*, como para o gene *SMN2*, com recurso a *polymerase chain reaction* (PCR), que permitiu, pela primeira vez, analisar doentes afetados com AME com base no número de cópias de *SMN2* e, assim, correlacionar esses dados com o tipo de AME desenvolvido. Pela análise de 375 doentes (tipo I, II e III) conseguiram calcular a probabilidade de uma criança desenvolver AME tipo I, II ou III, condicionado pelo número de cópias *SMN2*, demonstrando que uma única cópia de *SMN2* corresponde a uma probabilidade superior a 99% de desenvolver AME tipo I. Demonstrado o seu uso como ferramenta complementar de prognóstico, os autores sugerem que a determinação do número de cópias de *SMN2* em doentes com AME possa ser um pré-requisito essencial à terapia, permitindo adaptá-la antes que os neurónios motores sejam afetados e as crianças demonstrem os primeiros sintomas.³⁹ O reconhecimento da correlação entre o número de cópias do gene *SMN2* e a severidade e prognóstico da doença, associado à compreensão de que as diferenças entre as proteínas originadas por cada um dos genes advêm do *splicing* alternativo, levaram à intensiva investigação dos mecanismos subjacentes à doença, que evidenciaram o *SMN2* como

potencial alvo terapêutico, e levaram, em última análise, ao desenvolvimento do *nusinersen*, que será explorado no capítulo 3.

2.1.3. Funções celulares da proteína SMN

Com o propósito de melhor compreender o porquê de a depleção da proteína SMN levar à patogénese da AME, o seu papel no organismo tem sido extensivamente estudado.¹²

A SMN é uma proteína ubíqua, amplamente distribuída em todas as células do organismo. Encontra-se dispersa no citoplasma e no núcleo, sendo que no núcleo se observa concentrada em estruturas puntiformes, associadas aos corpos de Cajal, denominadas *gems*.^{11,40}

Uma das funções melhor caracterizadas da SMN é na forma de um complexo, envolvido na biossíntese e regeneração das *small nuclear ribonucleoproteins* (snRNPs), que desempenham um papel ativo em reconhecer e remover intrões do pre-ARNm no núcleo.^{10,41} A SMN facilita a formação, transporte e maturação das snRNPs como parte de um complexo que consiste na SMN, 6 proteínas denominadas Gemin (Gemin2-Gemin8) e uma proteína associada ao recetor serina-treonina cinase, denominada UNRIP, desempenhando um papel fundamental no *splicing* do ARNm.⁴¹ Assim, a diminuição da proteína codificada pelo gene *SMN1* leva à disrupção do mecanismo normal das snRNPs, causando defeitos no *splicing* em todos os tecidos.^{10,12,41}

Mas, o porquê de uma proteína expressa ubiquamente afetar especialmente os neurónios motores permanece ainda por esclarecer.^{12,36} Uma hipótese é que esta desempenhe outras funções específicas nos neurónios motores, ou que estes necessitem de maiores níveis de SMN para suportar o correto processamento do *splicing*,¹⁰ demonstrando maior sensibilidade à depleção desta proteína que outras células.^{12,36}

De facto, vários estudos indicam a SMN como uma proteína essencial à maturação, estabilidade e normal funcionamento da junção neuromuscular (JNM).¹² O colapso da JNM e diminuição na condução dos impulsos nervosos é uma das primeiras alterações patológicas da AME, que ocorre antes da degeneração dos neurónios motores alfa e, por isso, anterior ao aparecimento dos sintomas, com vários defeitos encontrados, não só em modelos animais, como também em doentes diagnosticados com AME, em que acumulação de neurofilamentos, denervação e defeitos eletrofisiológicos foram detetados.³⁶ Também a homeostase da ubiquitina e controlo do metabolismo energético, mecanismos essenciais à manutenção da estabilidade sináptica, parecem ser afetados, contribuindo para o desequilíbrio da homeostase dos neurónios motores.^{12,42} Por outro lado, alterações no

citoesqueleto, que desempenha um papel crucial no desenvolvimento neuronal, particularmente importante em processos de diferenciação, incluindo a maturação da JNM, foram também observadas. Além do seu papel na regulação da morfologia da JNM, o citoesqueleto tem um papel central na regulação da endocitose, essencial à função sináptica, nomeadamente na transdução do sinal na JNM, que demonstrou também estar alterada na AME.¹²

2.1.4. Diagnóstico

Relativamente ao diagnóstico, existem características clínicas altamente sugestivas para o diagnóstico da AME. A fraqueza é geralmente simétrica, mais proximal que distal e afeta normalmente mais as pernas que os braços. Na sua forma mais severa, tipo I, as crianças apresentam reduzido controlo da cabeça, choro e tosse fracas. É também observada dificuldade a engolir e comer, atrofia e contrações involuntárias da língua. Fraqueza e hipotonia dos membros e tronco é eventualmente acompanhada de fraqueza muscular intercostal e dependência do diafragma para controlar a respiração, exibindo característica respiração paradoxal.^{11,43}

The International Standard of Care Committee for Spinal Muscular Atrophy, estabeleceu em 2007 um consenso com vista a abordar as 5 áreas determinantes para a gestão da AME – diagnóstico, cuidados pulmonares, cuidados gastrointestinais e nutricionais, cuidados ortopédicos e de reabilitação e cuidados paliativos – cujo algoritmo para o procedimento sumarizado do diagnóstico pode ser consultado no Anexo I.⁴³

O primeiro teste de diagnóstico quando há suspeita de AME num doente deve ser o teste de deleção do gene SMN. Uma vez que 95% dos doentes com AME apresentam uma deleção/conversão genética homozigótica, o teste apresenta uma sensibilidade de 95% e especificidade de praticamente 100% - detetada a deleção homozigótica do gene *SMN1* está assim confirmado o diagnóstico de AME.^{34,43}

Caso o primeiro teste seja negativo, não sendo assim possível confirmar a deleção/conversão homozigótica do gene *SMN1*, outros exames laboratoriais devem ser realizados, nomeadamente medição da enzima creatina-cinase, testes eletrofisiológicos como eletromiografia (EMG) e testes de condução nervosa.¹¹ Estes exames permitirão identificar doenças musculares, neuropatias motoras e distúrbios das junções neuromusculares, tendo sido estabelecido que, caso a EMG sugira distúrbios neuromotores, testes que permitam detetar mutações ao nível do gene *SMN1* devem ser realizados.⁴³ Cerca de 1 em cada 20 doentes (5%) têm deleção de apenas um dos alelos, apresentando raras mutações pontuais

no segundo gene *SMN1*.³⁴ Nestes casos, torna-se importante a contagem de cópias do gene *SMN1*; se o doente possuir duas cópias do gene *SMN1*, outras doenças neuromotoras devem ser consideradas. No entanto, se for detetada apenas uma cópia, deve ser realizada a sequenciação da região codificante, que possa permitir identificar a mutação e assim confirmar o diagnóstico da 5q-AME.⁴³

A AME é uma das doenças genéticas mais comuns, com uma frequência de portadores de 1 em cada 40 pessoas, levantando a questão do potencial benefício proporcionado por um teste de *screening*, que permitiria identificar o risco de ter uma criança com AME. Recorrendo a técnicas de PCR ou *multiplex ligation-dependent probe amplification* é possível determinar quantitativamente a presença do gene *SMN1*, sendo que são considerados portadores aqueles que possuem apenas uma cópia do gene. No entanto, 2 a 3% da população apresentam duas cópias do *SMN1* num dos cromossomas 5q e nenhuma no segundo cromossoma 5q – serão então portadores, mas esta situação não seria detetada pelos testes atualmente disponíveis. Além disso, o teste genético também não elimina a possibilidade de ocorrência de mutações *de novo* – mutações que ocorrem no óvulo ou espermatozóide, mas não estão presentes nas células sanguíneas – representando assim uma possibilidade de dois pais não portadores terem uma criança com AME.^{11,34} Questões como a potencial ocorrência de falsos negativos, custos associados e a preocupação de como o resultado deste teste possa influenciar a decisão de um portador de querer, ou não, ter filhos, são ainda alguns dos pontos importantes no debate desta questão.³⁸

Até à aprovação do oligonucleótido *antisense nusinersen*, o facto de não existir um tratamento modificador da doença para a AME, violava o segundo dos dez critérios estabelecidos por Wilson e Junger em 1968 para o *screening* genético numa população, que determina que “deve haver um tratamento aprovado para os doentes em quem seja reconhecida a doença”,⁴⁴ algo que, na minha opinião, deverá ser revisto após os mais recentes desenvolvimentos no tratamento da AME.

Relativamente ao diagnóstico pré-natal, D’Amico *et al.* (2011), defendem que este deve ser apenas oferecido a casais que tenham tido previamente uma criança afetada com AME já que o risco de reincidência é de 25%, referindo ainda que, na sua opinião, em parentes de pessoas afetadas, determinar se são ou não portadores seria suficiente para marcadamente reduzir o risco de os filhos virem a ter AME, devendo o diagnóstico pré-natal apenas ser realizado caso ambos os progenitores testem positivo. No entanto, a severidade clínica de um feto potencialmente afetado, não pode ser determinada *a priori* e o poder preditivo do número de cópias do gene *SMN2* não é suficiente para determinar um prognóstico acurado,^{11,45} dando força às preocupações do *The American Congress of*

Obstetricians and Gynecologists, que alertam para o facto de uma compreensão imprópria da variabilidade do fenótipo da doença poder levar ao término de uma gravidez por falta de informação.³⁸

Por outro lado, de acordo com as *guidelines* da *American Society of Human Genetics*, o diagnóstico pré-sintomático só deve ser considerado quando dele advenham benefícios médicos, como medidas preventivas ou terapêuticas, que possam atrasar o aparecimento dos sintomas ou abrandar a progressão da doença.⁴⁶ De facto, em crianças afetadas com AME tipo I, uma rápida perda de unidades motoras ocorre nos primeiros 3 meses e grave denervação, com perda de mais de 95% das unidades motoras até aos 6 meses de vida, demonstrando uma janela muito estreita para intervenções terapêuticas nestes casos.⁴⁷ O *screening* neonatal revela-se, assim, uma importante ferramenta na AME, na medida em que permite identificar indivíduos afetados o mais cedo possível e dessa forma iniciar o tratamento antes que danos neuronais irreversíveis ocorram.¹¹

Atualmente, o *screening* universal da AME não é economicamente viável; Little *et al.*, desenvolveram um modelo teórico em que estimaram que o custo seria \$5 milhões por caso detetado, aproximadamente o mesmo valor que implicaria o tratamento de 10 crianças na ausência de *screening* universal. No entanto, testar indivíduos de alto risco como aqueles com histórico de AME na família seria prudente. No debate desta questão é imprescindível manter em consideração os encargos físicos, financeiros e emocionais para o doente e a sua família, que devem ter na sua posse informação que lhes permita tomar decisões esclarecidas no acontecimento de terem um filho com muito mau prognóstico, ou que lhes permita prepararem-se adequadamente para a eventualidade de, apesar de uma esperança de vida normal, terem uma criança que necessite de assistência e cuidados adicionais.^{38,48}

3. Tratamento

A inexistência de alternativas farmacológicas capazes de alterar o curso natural da AME, limitaram o seu tratamento a terapia de suporte, destinada a prolongar a vida dos doentes, diminuindo a carga associada aos seus sintomas, e assim proporcionar uma melhor qualidade de vida.⁴⁹ Esta terapia envolve uma equipa multidisciplinar, destinada ao controlo de complicações pulmonares – principal causa de morbilidade e mortalidade da AME – nutricionais e gastrointestinais, cuidados ortopédicos e intervenções de reabilitação, e cuidados paliativos.⁴⁵

3.1. Descoberta do Silenciador Intrínico do *Splicing* NI como alvo terapêutico

Desde a descoberta de que a AME é causada pela deleção homozigótica do gene *SMN1*, e consequente depleção da proteína SMN, esforços para o desenvolvimento de um tratamento eficaz têm-se focado amplamente na capacidade de restaurar a expressão desta proteína. Várias abordagens surgiram, sendo a que ganhou maior destaque pelo seu potencial terapêutico, a possibilidade de, utilizando AONs dirigidos a sequências específicas no gene *SMN2*, aumentar a inclusão do exão 7 ou mesmo inibir a sua exclusão no momento do *splicing* do ARN.¹²

Neste âmbito, a descoberta do silenciador intrínico do *splicing* NI (ISS-NI), em 2004 na Universidade de Medicina de Massachusetts, foi de enorme importância. Além da alteração no *splicing* induzida pela mutação silenciosa de uma citosina para uma timina, referida anteriormente, que enfraquece o local de *splicing* 3', a análise do *splicing* em células vivas revelou que um local de corte enfraquecido na extremidade 5' é também um fator limitante para a inclusão do exão 7. Conseqüentes estudos desenvolvidos nos laboratórios Singh and Androphy na Universidade de Massachusetts indicaram o ISS-NI como o elemento inibitório *major* na regulação do *splicing* do exão 7 da proteína SMN, que revolucionou o entendimento da regulação do *splicing* desta proteína e liderou o caminho para a possibilidade de uma terapia *antisense* para a AME, como o mais potente alvo *antisense* para o tratamento de uma doença genética até hoje encontrado.⁵⁰ Em coerência com o forte efeito inibitório do ISS-NI, o uso de um AON complementar a esta região e assim capaz de bloquear o seu efeito, restaurou completamente a inclusão do exão 7 em fibroblastos derivados de doentes com AME. Para efeitos de estabilidade os AONs utilizados nos estudos apresentavam uma base de fosforotioato com alterações 2MOE em todos os resíduos de açúcar. Mutações no alvo e no AON aboliram o efeito de estímulo do *splicing* do exão 7, evidenciando que este efeito é causado pela complementaridade do AON com a sequência alvo. As observações constatadas representariam um raro exemplo de um AON altamente específico com níveis de atividade desejável a uma baixa concentração nanomolar, demonstrando ainda que o ISS-NI é estruturalmente acessível.⁵¹

O *screening* de um largo número de AONs que pudessem atuar neste alvo, realizado pela Ionis Pharmaceuticals, destacou o *nusinersen* como o principal candidato.⁵⁰ O *nusinersen* é um AON modificado estruturalmente na forma de um fosforotioato 2MOE, que se liga a uma sequência específica no intrão, posterior ao exão 7 no pre-ARNm do *SMN2*. Assim,

exerce a sua ação como um SSO, modulando o *splicing* de forma a incluir o exão 7, e assim aumentar a produção da proteína SMN na sua forma completa, estável e funcional.⁵²

3.2. Desenvolvimento clínico

Para a AME os passos iniciais começaram, assim, pelos estudos em cultura de células, desenhados para testar a hipótese de os AONs terem capacidade de desencadear a inclusão do exão 7 e, de o gene *SMN2* poder ser induzido para criar uma proteína SMN estável. Resultados positivos levaram a subsequentes experiências *in vivo*, em ratos geneticamente modificados, demonstrando que o uso de AONs poderia aumentar os níveis de proteína SMN, alterar o fenótipo mutante e diminuir os sintomas da doença.

O sucesso dos estudos em animais encorajou os ensaios clínicos de fase I, com o objetivo de examinar a segurança, tolerabilidade, farmacocinética e eficácia clínica preliminar da injeção IT do *nusinersen*.⁵³ Este ensaio, patrocinado pela Biogen e pela Ionis Pharmaceuticals, envolveu 28 participantes, do sexo feminino e masculino, com idades compreendidas entre os 2 e os 14 anos, com AME tipo 2 e 3, que receberam uma única dose do medicamento por via IT por punção lombar, e dividiram-se em quatro grupos conforme a dose administrada: 1, 3, 6 e 9 mg. Este estudo preliminar permitiu concluir que, uma única dose de 9 mg não induziria preocupações a níveis de segurança ou tolerabilidade, sugerindo ainda que testes com doses mais elevadas deveriam ser considerados. Não foram registados quaisquer efeitos adversos graves durante o curso deste estudo e nenhum participante experienciou efeitos adversos que levassem à descontinuação do estudo. A maioria dos efeitos adversos reportados foram de severidade moderada, sendo os mais frequentemente observados dores de cabeça e cefaleias pós-punção lombar. Também, todas as amostras apresentaram resultado negativo para a presença de anticorpos anti-*nusinersen*, indicando que uma resposta imunogénica ao medicamento não terá sido observada após uma única administração IT. De salientar ainda que um aumento significativo na escala de *Hammersmith Functional Motor Scale Expanded* foi observado, no grupo ao qual foi administrado a dose de 9 mg, com um aumento de 3.1 pontos após 3 meses, que passou a 5.8 ao fim de 9-14 meses, data do *follow-up*, tendo sido já previamente projetado e incluído noutros ensaios clínicos que uma alteração de 3 pontos ao final de 6 meses constituiria uma alteração clinicamente significativa.⁵⁴ Acresce que, este estudo de fase I não demonstrou correlação aparente entre a idade ou peso corporal total e as concentrações atingidas no LCR, sugerindo que doses fixas serão apropriadas na população pediátrica.⁵²

O favorável perfil risco-benefício deste estudo em crianças com AME encorajou o avanço nos desenvolvimentos do fármaco que prosseguiu então para um ensaio clínico de fase 2, aberto, com progressivo aumento de dose, que teve como principal objetivo examinar a eficácia clínica de múltiplas doses do fármaco e ainda de estudar as suas propriedades farmacocinéticas no LCR e no plasma. Neste ensaio participaram 20 crianças, de idades até aos 210 dias, com início dos sintomas entre as 3 semanas e 6 meses, aos quais foi administrado *nusinersen*, numa dose de 6 ou 12 mg, por punção lombar nos dias 1, 15, 85 e 253, com tratamento de *follow-up* a cada 4 meses. Este ensaio relevou resultados promissores e embora todos os participantes tenham experienciado algum efeito adverso, a maioria foram ligeiros. Os efeitos adversos considerados mais severos estariam relacionados com a doença em si e não com o tratamento. A caracterização molecular de tecido autopsiado de três crianças revelou um aumento (2 a 6 vezes superior) da proteína SMN, providenciando assim evidência de que a correção do *splicing* estaria a ser atingida em humanos.⁵²⁻⁵⁵

Relativamente às suas propriedades farmacocinéticas, os testes desenvolvidos permitiram ainda a confirmação de que o fármaco se distribui eficazmente pelo SNC quando administrado por via IT, com concentrações no LCR ainda quantificáveis ao fim de 15 a 168 dias, indicando uma exposição prolongada do LCR e tecidos do SNC ao *nusinersen*. O fármaco é metabolizado via hidrólise mediada por exonucleases, e a sua principal via de eliminação na forma de metabolitos de cadeia curta pensa-se ser por excreção urinária.⁵²

Resultados de vários estudos demonstram que, apesar dos substanciais progressos motores observados em doentes tipo I, o *nusinersen* poderá ter efeitos mais modestos em outros doentes. Esta variação poderá estar relacionada, pelo menos em parte, com o atraso no diagnóstico e tempo até ao início do tratamento uma vez que, doentes que iniciaram o tratamento cedo, comparativamente com aqueles que iniciaram já numa fase mais avançada do curso da doença, apresentaram melhores resultados.¹² Neste sentido, o ensaio clínico de fase 2, NURTURE, que se encontra ainda a decorrer, pretende explorar esta questão, avaliando a eficácia do fármaco em recém-nascidos pré-sintomáticos com o propósito de inferir se a administração do *nusinersen* nesta fase poderá atrasar ou mesmo prevenir o desenvolvimento da doença e seus sintomas.^{12,56} Os resultados deste estudo serão essenciais para uma compreensão mais completa da eficácia do *nusinersen* assim como poderão vir a confirmar, na minha opinião, a importante necessidade de implementação do diagnóstico pré-natal, de forma a que o tratamento possa ser iniciado o mais rapidamente possível.

A mais importante revelação no desenvolvimento clínico do *nusinersen* surgiu quando os fortes resultados da análise interina do ensaio clínico de fase 3, ENDEAR – aleatório,

duplamente cego, multinacional, com grupo controlo – levaram ao fim antecipado do ensaio, para que todos os participantes pudessem iniciar tratamento com o fármaco, sendo transferidos para um ensaio clínico aberto, SHINE, com o objetivo de estudar agora a segurança e tolerabilidade do tratamento a longo-prazo.^{57,58} A análise interina do ensaio clínico ENDEAR foi realizada em 110 participantes, até aos 7 meses de idade, (73 tratadas com o fármaco em estudo e 37 do grupo controlo) ao 183º dia, dos quais 51% dos participantes tratados com *nusinersen* atingiram progressos significativos ao nível da função motora comparando com zero no grupo controlo. Quatro dos participantes atingiram a capacidade de se sentarem independentemente e um participante atingiu mesmo a capacidade de ficar de pé, resultados quase nunca observados no curso natural da AME.^{53,59}

3.3. Aprovação do *nusinersen*

Os robustos dados obtidos nos ensaios clínicos de fase 3, que demonstraram um impacto positivo nas capacidades motoras e aumento da sobrevivência de doentes com AME, levaram então a um processo de aprovação acelerado por parte da FDA que aprovou a comercialização do *nusinersen*, sob o nome comercial de Spinraza[®], como medicamento órfão em dezembro de 2016, seguido de aprovação pela EMA em maio de 2017, como o primeiro tratamento para a principal causa de morte genética infantil, a AME.

Spinraza[®], cuja substância ativa é o *nusinersen*, é comercializado na forma de solução para injeção em ampolas de 12 mg, destinado a ser administrado por via IT o mais cedo possível após o diagnóstico de AME. A primeira dose deverá ser seguida de 3 doses, consideradas a dose de carga, administradas às 2, 4 e 9 semanas, seguido de uma injeção a cada 4 meses a partir desse momento e enquanto se verifique benefício para o doente.⁶⁰ Antes do início do tratamento, é recomendada a realização de análises laboratoriais às plaquetas e coagulação, por terem sido observadas anomalias na coagulação e trombocitopenia, assim como análise das proteínas na urina, uma vez que foi observada toxicidade renal. Os efeitos adversos mais comuns incluem febre, dores de cabeça, vômitos, dores de costas e cefaleias pós-punção lombar.^{61,62}

4. Perspetiva futura e considerações finais

Nos últimos anos, a crescente compreensão do funcionamento do genoma levou a alterações profundas na visão atual de como uma célula funciona e como essa complexidade biológica moldou a evolução. Com isso, também uma nova abordagem ao desenvolvimento de novos fármacos emergiu do conceito de que o genoma contém a informação que codifica as proteínas e que estas são os *building blocks* do organismo, tornando-se evidente que a ativação ou inibição de vias de sinalização específicas permite moldar as suas funções dentro das células e tecidos.³³

No entanto, a utilização de AONs como agentes terapêuticos, para modular ou inibir a produção de proteínas específicas, foi recebida com ceticismo. O conceito do seu funcionamento tem sido explorado desde a década de 70 e o sucesso pareceu sempre próximo, mas, na verdade, até a aprovação do *nusinersen*, apenas um outro AON tinha recebido aprovação por parte da EMA e dois por parte da FDA, não tendo nenhum demonstrado sucesso comercial ou ampla utilização, com vários outros AONs a não atingirem resultados promissores em ensaios clínicos. Antes de os AONs poderem alcançar o seu potencial terapêutico foi necessário desenvolver novos métodos para a sua síntese, identificar e explorar diversas modificações químicas que melhorassem as suas características, como ultrapassar as membranas biológicas para que pudessem exercer a sua ação no alvo assim como compreender o seu mecanismo farmacológico e farmacocinético. Nas palavras de David R. Corey, um novo campo de desenvolvimento de fármacos teve que ser desenvolvido. A aprovação do *nusinersen* representa o culminar de anos de contínuo progresso, através da colaboração de investigadores de diversas áreas, médicos e doentes, que reuniram esforços públicos e privados, oferecendo evidência encorajadora do potencial dos AONs como agentes terapêuticos eficazes.^{12,53}

Até hoje, o *nusinersen*, comercializado pela empresa farmacêutica Biogen sob o nome comercial de Spinraza[®], representa o maior sucesso atingido com um AON, tanto a nível de benefício proporcionado para o doente como a nível comercial.⁶³ Não obstante, o otimismo deve ser temperado com precaução, na medida em que é importante gerir as expectativas de doentes e suas famílias, em relação ao benefício proporcionado pelo novo fármaco. No presente momento, o tratamento não representa uma cura, mas sim a alteração de um fenótipo severo para um menos severo, com necessidade crónica de tratamento e gestão de possíveis complicações de doença persistente.²² Os dados clínicos atualmente disponíveis indicam claramente que terapias com AONs têm diferentes efeitos em diferentes doentes, sendo importante ressaltar que mesmo aqueles que respondem melhor à terapêutica

atingem um nível de função motora que pode ficar atrás comparativamente àquele que é atingido em crianças não afetadas pela AME.¹² Além disso, a duração ótima do tratamento é ainda incerta e permanece por responder a questão se, sendo a SMN uma proteína expressa ubiquamente, o seu aumento apenas no SNC poderá compensar e assim diminuir os sintomas também expressos a nível sistémico.²² Estudos pós-comercialização são imprescindíveis para averiguar os efeitos do tratamento quando efetuado ao fim de vários anos ou décadas, não sendo atualmente possível discutir questões como a qualidade de vida proporcionada a longo-prazo, se a toxicidade é cumulativa ou se os doentes virão a desenvolver anticorpos anti-*nusinersen*.^{12,22,64}

Ultrapassadas as questões mencionadas, as implicações financeiras do tratamento representam ainda uma das principais barreiras a ultrapassar. Com a chegada de novos tratamentos clínicos, especialmente aqueles destinados ao tratamento de doenças raras como a AME, baseados em tecnologia de ponta, a controvérsia da questão económica encontra-se na vanguarda da discussão pública, com o anúncio da Biogen de que o preço nos Estados Unidos da América seria de US\$750 000 no primeiro ano de tratamento e US\$350 000 por cada ano subsequente. Ainda, com a diferença nas regulamentações e Serviços de Saúde de país para país, é provável que, geograficamente, se gerem diferenças significativas na disponibilidade e acesso ao tratamento.¹²

Em Portugal, o custo do tratamento não foi ainda estabelecido, aguardando avaliação farmacoeconómica por parte do Infarmed. A Biogen disponibilizou um Programa de Acesso Precoce, através do qual algumas crianças diagnosticadas com AME tipo I terão já iniciado o tratamento. No entanto, no presente momento, fora desse programa, a única forma de acesso ao tratamento é por pedido de Autorização de Utilização Especial. Em comunicado de imprensa, no dia 29 de março de 2018, o INFARMED comunica que reuniu com a Associação Portuguesa de Neuromusculares e com a empresa titular do medicamento, numa iniciativa inédita, “com o objetivo de estabelecer as melhores condições de aquisição e utilização pelas entidades hospitalares do Serviço Nacional de Saúde (SNS)”. Afirma ainda que, “constituindo-se como uma prioridade para o Infarmed, prevê-se que o medicamento *nusinersen* esteja disponível para as entidades hospitalares do SNS no início do verão, garantindo a equidade no acesso a esta terapêutica, em tempo útil, ao mesmo tempo que se garantem mecanismos de monitorização e controlo de risco clínico.”⁶⁵

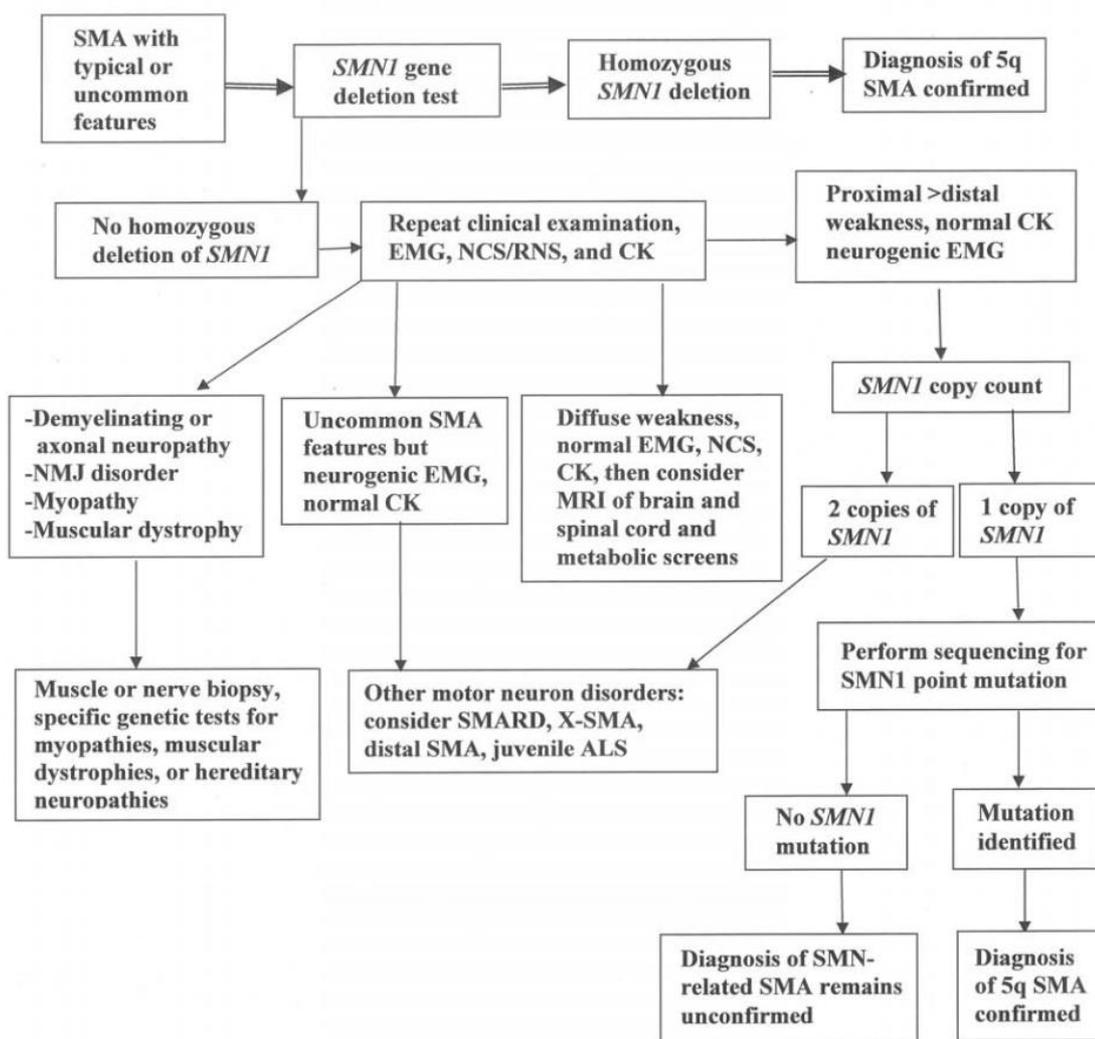
Apesar dos desafios ainda a ultrapassar, a aprovação do *nusinersen* vem irrevogavelmente alterar a história natural da AME, permitindo pela primeira vez observar melhorias significativas nos seus doentes. Além disso, enormes progressos foram atingidos na compreensão do potencial dos AONs como agentes terapêuticos. Foi demonstrado que

os AONs conseguem atuar no SNC, em concentrações capazes de produzir efeitos duradouros e assim positivamente alterar o progresso da doença, oferecendo esperança de que outras doenças genéticas possam beneficiar destas constatações. Acresce que, o *uptake* dos AONs e sua atividade não foram associados a toxicidade inaceitável e parecem ser bem tolerados entre doentes.⁶³

Conclui-se, assim, que a sua aprovação como primeiro fármaco *antisense* destinado a tratar uma doença genética por correção do *splicing*, representa não só um marco histórico para a AME, como se prevê que, pelas lições aprendidas no percurso do seu desenvolvimento, lidere o caminho para a descoberta de novas alternativas terapêuticas para doenças até hoje incuráveis.⁵⁰

Anexos

Anexo I. Avaliação diagnóstica para a AME, recomendada por *The Standard Of Care Committee*. EMG – *electromyography*, eletromiografia; NCS – *nerve conduction study*, estudo de condução nervosa; RNS – *repetitive nerve stimulation*, estimulação nervosa repetitiva; CK – *creatine kinase*, creatina-cinase; NMJ – *neuromuscular junction*, junção neuromuscular; MRI – *magnetic resonance imaging*, ressonância magnética; SMARD – *spinal muscular atrophy with respiratory distress*, atrofia muscular aguda com síndrome de dificuldade respiratória aguda; X-SMA – *X-link SMA*, AME, distal, ligada ao X; ALS – *amyotrophic lateral sclerosis*, esclerose lateral amiotrófica.



Bibliografia

1. LUNDIN, K. E., GISSBERG, O. & SMITH, C. I. E. Oligonucleotide Therapies: The Past and the Present. *Hum. Gene Ther.* **26**, (2015) 475–485.
2. STEPHENSON, M. L. & ZAMECNIK, P. C. Inhibition of Rous sarcoma viral RNA translation by a specific oligodeoxyribonucleotide. **75**, (1978) 285–288.
3. PHARMA MIRROR MAGAZINE. Antisense Drugs. (2014). [Acedido a 8 de abril de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.pharmamirror.com/knowledge-base/pharmaceutical-dictionary/antisense-drugs-definition-technology-mechanism/>.
4. LEE, J. & YOKOTA, T. Antisense therapy in neurology. *J. Pers. Med.* **3**, (2013) 144–176.
5. VERMA, A. Recent Advances in Antisense Oligonucleotide Therapy in Genetic Neuromuscular Diseases. *Ann. Indian Acad. Neurol.* **21**, (2018) 3–8.
6. EU JOINT PROGRAMME - NEURODEGENERATIVE DISEASE RESEARCH. What Is Neurodegenerative Disease? *Joint Programming*. [Acedido a 6 de maio de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.neurodegenerationresearch.eu/about/joint-programming/>.
7. YACOUBIAN, T. A. Chapter 1 – Neurodegenerative Disorders: Why Do We Need New Therapies? in *Drug Discovery Approaches for the Treatment of Neurodegenerative Disorders - Alzheimer's Disease* (2017). 1–16.
8. MONANI, U. R. Spinal Muscular Atrophy: A Deficiency in a Ubiquitous Protein; a Motor Neuron-Specific Disease. *New York* **48**, (2005) 885–896.
9. TALBOT, K. & TIZZANO, E. F. The clinical landscape for SMA in a new therapeutic era. *Gene Ther.* **24**, (2017) 529–533.
10. CHERRY, J. J. & ANDROPHY, E. J. Therapeutic Strategies for the Treatment of Spinal Muscular Atrophy (SMA) Disease. *Future Med. Chem.* **4**, (2012) 1733–1750.
11. D'AMICO, A., MERCURI, E., TIZIANO, F. D. & BERTINI, E. Spinal muscular atrophy. *Orphanet J. Rare Dis.* **6**, (2011) 1–10.
12. GROEN, E. J. N., TALBOT, K. & GILLINGWATER, T. H. Advances in therapy for spinal muscular atrophy: promises and challenges. *Nat. Rev. Neurol.* **14**, (2018) 214–224.
13. GURAV, B. & SRINIVASAN, G. Antisense Oligonucleotides as Therapeutics and their Delivery. *Curr. Sci.* **112**, (2017) 490–498.
14. SOUTHWELL, A. L., SKOTTE, N. H., BENNETT, C. F. & HAYDEN, M. R. Antisense oligonucleotide therapeutics for inherited neurodegenerative diseases. *Trends Mol. Med.* **18**, (2012) 634–643.

15. EVERS, M. M., TOONEN, L. J. A. & ROON-MOM, W. M. C. VAN. Antisense oligonucleotides in therapy for neurodegenerative disorders intraventricular intranasal intrathecal. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **87**, (2015) 90–103.
16. DIAS, N. & STEIN, C. A. Antisense oligonucleotides: basic concepts and mechanisms. *Mol. Cancer Ther.* **1**, (2002) 347–55.
17. HAVENS, M. A. & HASTINGS, M. L. Splice-switching antisense oligonucleotides as therapeutic drugs. *Nucleic Acids Res.* **44**, (2016) 6549–6563.
18. BENNETT, C. F., BAKER, B. F., PHAM, N., SWAYZE, E. & GEARY, R. S. Pharmacology of Antisense Drugs. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **57**, (2017) 81–105.
19. CHI, X., GATTI, P. & PAPOIAN, T. Safety of antisense oligonucleotide and siRNA-based therapeutics. *Drug Discov. Today* **22**, (2017) 823–833.
20. DEVOS, S. L. & MILLER, T. M. Antisense Oligonucleotides: Treating Neurodegeneration at the Level of RNA. *Neurotherapeutics* **10**, (2013) 486–497.
21. BRAASCH, D. A., LIU, Y. & COREY, D. R. Antisense inhibition of gene expression in cells by oligonucleotides incorporating locked nucleic acids: Effect of mRNA target sequence and chimera design. *Nucleic Acids Res.* **30**, (2002) 5160–5167.
22. GOYAL, N. & NARAYANASWAMI, P. Making Sense of Antisense Oligonucleotides: A Narrative Review. *Muscle Nerve* (2017) 1–62 doi:10.1002/mus.26001.
23. JULIANO, R. L. The delivery of therapeutic oligonucleotides. *Nucleic Acids Res.* **44**, (2016) 6518–6548.
24. GODFREY, C., DESVIAT, L., SMEDSRØD, B., PIÉTRI-ROUXEL, F., DENTI, M., DISTERER, P., LORAIN, S., NOGALES-GADEA, G., SARDONE, V., ANWAR, R., EL ANDALOUSSI, S., LEHTO, T., KHOO, B., BROLIN, C., VAN ROON-MOM, W., GOYENVALLE, A., AARTSMA-RUS, A., ARECHAVALA-GOMEZA, V. Delivery is key: lessons learnt from developing splice-switching antisense therapies. *EMBO Mol. Med.* **9**, (2017) 545–557.
25. CERRITELLI, S. M. & CROUCH, R. J. Ribonuclease H: The enzymes in eukaryotes. *FEBS J.* **276**, (2009) 1494–1505.
26. WU, H., LIMA, W.F., ZHANG, H., FAN, A., SUN, H., CROOKE, S.T. Determination of the Role of the Human RNase H1 in the Pharmacology of DNA-like Antisense Drugs. *J. Biol. Chem.* **279**, (2004) 17181–17189.
27. INTEGRATED DNA TECHNOLOGIES. Designing Antisense Oligonucleotides. (2005).
28. GEARY, R. S., NORRIS, D., YU, R. & BENNETT, C. F. Pharmacokinetics, biodistribution and cell uptake of antisense oligonucleotides. *Adv Drug Deliv Rev* **87**, (2015) 46–51.
29. PALMER, A. M. The blood-brain barrier. *Neurobiol. Dis.* **37**, (2010) 1–2.

30. PASSINI, M. A., BU, J., RICHARDS, A.M., KINNECOM, C., SARDI, S.P., STANEK, L., HUA, Y., RIGO, F., MATSON, J., HUNG, G., KAYE, E.M., SHIHABUDDIN, L.S., KRAINER, A.R., BENNETT, C.F., CHENG, S.H. Antisense Oligonucleotides Delivered to the Mouse CNS Ameliorate Symptoms of Severe Spinal Muscular Atrophy. *Sci. Transl. Med.* **3**, (2011) 1–11.
31. GHOSH, R. & TABRIZI, S. J. Gene suppression approaches to neurodegeneration. *Alzheimer's Res. Ther.* **9**, (2017).
32. HARVARD NEURODISCOVERY CENTER. The Challenge of Neurodegenerative Diseases. *Harvard NeuroDiscovery Center*. [Acedido a 6 de maio de 2018]. Disponível na Internet: <https://neurodiscovery.harvard.edu/challenge>.
33. GUSTINCICH, S., ZUCHELLI, S. & MALLAMACI, A. The Yin and Yang of nucleic acid-based therapy in the brain. *Prog. Neurobiol.* **155**, (2017) 194–211.
34. SIMARD, L. The Genetics of Spinal Muscular Atrophy. *cure SMA* (2009). [Acedido a 6 de Maio de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.curesma.org/documents/support-care-documents/genetics-of-sma.pdf>.
35. RIGO, F., HUA, Y., KRAINER, A. R. & FRANK BENNETT, C. Antisense-based therapy for the treatment of spinal muscular atrophy. *J. Cell Biol.* **199**, (2012) 21–25.
36. BOYD, P. J., TU, W.Y., SHORROCK, H.K., GROEN, E.J.N., CARTER, R.N., POWIS, R., THOMSON, S.R., THOMSON, D., GRAHAM, L., MOTYL, A., WISHART, T.M., HIGHLEY, J. R., MORTON, N., BECKER, T., BECKER, C.G., HEATH, P.R., GILLINGWATER, T.H. Bioenergetic status modulates motor neuron vulnerability and pathogenesis in a zebrafish model of spinal muscular atrophy. *PLoS Genet.* **13**, (2017).
37. KHATRI, I. A., CHAUDHRY, U. S., SEIKALY, M. G., BROWNE, R. H. & IANNACCONE, S. T. Low bone mineral density in spinal muscular atrophy. *J Clin Neuromuscul Dis* **10**, (2008) 11–17.
38. BURNS, J. K., KOTHARY, R. & PARKS, R. J. Opening the window: The case for carrier and perinatal screening for spinal muscular atrophy. *Neuromuscul. Disord.* **26**, (2016) 551–559.
39. FELDKÖTTER, M., SCHWARZER, V., WIRTH, R., WIENKER, T. F. & WIRTH, B. Quantitative analyses of SMN1 and SMN2 based on real-time lightCycler PCR: fast and highly reliable carrier testing and prediction of severity of spinal muscular atrophy. *Am. J. Hum. Genet.* **70**, (2002) 358–68.
40. SPROULE, D. M. & KAUFMANN, P. Therapeutic developments in spinal muscular atrophy. *Ther. Adv. Neurol. Disord.* **3**, (2010) 173–185.

41. BURGHEES, A. H. M. & BEATTIE, C. E. Spinal muscular atrophy: Why do low levels of survival motor neuron protein make motor neurons sick? *Nat. Rev. Neurosci.* **10**, (2009) 597–609.
42. GILLINGWATER, T. H. & WISHART, T. M. Mechanisms underlying synaptic vulnerability and degeneration in neurodegenerative disease. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **39**, (2013) 320–334.
43. WANG, C. H. et al. Consensus statement for standard of care in spinal muscular atrophy. *J. Child Neurol.* **22**, (2007) 1027–1049.
44. ANNE ANDERMANN IB, SYLVIE BEAUCHAMP, V. D. Revisiting Wilson and Jungner in the genomic age. *Bull. World Health Organ.* **86** (2010) 241–320.
45. ARNOLD, W. D., KASSAR, D. & KISSEL, J. T. Spinal muscular atrophy: Diagnosis and management in a new therapeutic era. *Muscle Nerve* **51**, (2015) 157–167.
46. AMERICAN SOCIETY OF HUMAN GENETICS BOARD OF DIRECTORS AND AMERICAN COLLEGE OF MEDICAL GENETICS BOARD OF DIRECTORS. Points to Consider : Ethical , Legal , and Psychosocial Implications of Genetic Testing in Children and Adolescents. **57**, (1995) 1233–1241.
47. SWOBODA, K. J. et al. Natural history of denervation in SMA: Relation to age, SMN2 copy number, and function. *Ann. Neurol.* **57**, (2005) 704–712.
48. LITTLE, S.E., JANAKIRAMAN, V., KAIMAL, A., MUSCI, T., ECKER, J., CAUGHEY, A. B. The cost-effectiveness of prenatal screening for spinal muscular atrophy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **202**, (2010).
49. BAIONI, M. T. C. & AMBIEL, C. R. Atrofia muscular espinhal : diagnóstico, tratamento e perspectivas futuras. *J. Pediatr. (Rio. J)*. **86**, (2010).
50. SINGH, N. N., HOWELL, M. D., ANDROPHY, E. J. & SINGH, R. N. How the discovery of ISS-NI led to the first medical therapy for spinal muscular atrophy. *Gene Ther.* **24**, (2017) 520–526.
51. SINGH, N. K., SINGH, N. N., ANDROPHY, E. J. & SINGH, R. N. Splicing of a Critical Exon of Human Survival Motor Neuron Is Regulated by a Unique Silencer Element Located in the Last Intron. *Mol. Cell. Biol.* **26**, (2006) 1333–1346.
52. HOY, S. M. Nusinersen : First Global Approval. *Drugs* (2017).
53. COREY, D. R. Nusinersen , an antisense oligonucleotide drug for spinal muscular atrophy. *Nat. Neurosci.* **20**, (2017) 497–499.

54. CHIRIBOGA, C. A., SWOBODA, K. J., DARRAS, B. T. & IANNACCONE, S. T. Results from a phase I study of nusinersen (ISIS-SMN Rx) in children with spinal muscular atrophy Objective : Methods : Results : Conclusions : Classification of evidence : **86**, (2016) 890–897.
55. FINKEL, R. S, CHIRIBOGA, C., VAJSAR, J., DAY, J.W., MONTES, J., DE VIVO, D.C., YAMASHITA, M., RIGO, F., HUNG, G., SCHNEIDER, E., NORRIS, D.A., XIA, S., BENNETT, C. F., BISHOP, K.M. Treatment of infantile-onset spinal muscular atrophy with nusinersen: a phase 2, open-label, dose-escalation study. *Lancet* **388**, (2016) 3017–3026.
56. CURESMA. NURTURE. (2017). [Acessido a 18 de Maio de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.curesma.org/documents/research-documents/nurture-qa.pdf>.
57. BIOGEN. A Study to Assess the Efficacy and Safety of Nusinersen (ISIS 396443) in Infants With Spinal Muscular Atrophy (ENDEAR). (2017). [Acessido a 20 de maio de 2018]. Disponível na Internet: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02193074>.
58. BIOGEN. A Study for Participants With Spinal Muscular Atrophy (SMA) Who Previously Participated in Nusinersen (ISIS 396443) Investigational Studies. (SHINE). (2018). [Acessido a 18 de maio de 2018]. Disponível na Internet: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02594124>.
59. CHIRIBOGA, C. A., SAITO, K., SERVAIS, L., TIZZANO, E., TOPALOGU, H., TULINIUS, M. Nusinersen versus Sham Control in Infantile-Onset Spinal Muscular Atrophy. *N. Engl. J. Med.* **377**, (2017) 1723–1732.
60. EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Spinraza: EPAR - Summary for the public. (2017). [Acedido a 30 de maio de 2018]. Disponível na Internet: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_Summary_for_the_public/human/004312/WC500229707.pdf
61. BIOGEN. Important Safety Information. (2018). [Acedido a 30 de maio de 2018]. Disponível na Internet: https://www.spinraza.com/en_us/home/safety/profile.html.
62. EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Resumo das Características do Medicamento. Nusinersen. (2017). [Acedido a 30 de maio de 2018]. Disponível na Internet: http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_Product_Information/human/004312/WC500229704.pdf.
63. SHEN, X. & COREY, D. R. Chemistry , mechanism and clinical status of antisense oligonucleotides and duplex RNAs. *Oxford Acad.* **46**, (2018) 1584–1600.
64. AARTSMA-RUS, A. FDA Approval of Nusinersen for Spinal Muscular Atrophy Makes 2016 the Year of Splice Modulating Oligonucleotides. *Nucleic Acid Ther.* **27**, (2017) 67–69.

65. INFARMED. Infarmed junta associação de doentes e indústria em processo de avaliação de um medicamento. (2018). [Acedido a 1 de junho de 2018]. Disponível na Internet:<http://www.infarmed.pt/documents/15786/1879176/Infarmed+junta+associaçã+o+de+doentes+e+indústria++em+processo+de+avaliação+de+um+medicamento/d5580204-8858-4628-8076-f99e10d99019>.