



Diana Raquel dos Santos Godinho

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Importância dos transportadores no controlo da exposição fetal a xenobióticos” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, da Dra. Ana Maria Martins Rico, da Dra. Carla Cristina Albano Dias Paiva e da Professora Doutora Joana Bicker de Melo Alves Aparício e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Diana Raquel dos Santos Godinho

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “ Importância dos transportadores no controlo da exposição fetal a xenobióticos” realizados no âmbito da unidade curricular “Estágio” sob orientação, da Dr.^a Ana Maria Martins Rico, da Dr.^a Carla Cristina Albano Dias Paiva e da Professora Doutora Joana Bicker de Melo Alves Aparício, e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Diana Raquel dos Santos Godinho, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2013173305, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Importância dos transportadores no controlo da exposição fetal a xenobióticos”, 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, 5 de setembro de 2018.

Diana Raquel dos Santos Godinho

(Diana Raquel dos Santos Godinho)

Agradecimentos

À Professora Doutora Joana Bicker pela sua disponibilidade e ajuda na realização desta monografia.

À equipa da Farmácia Central: à Dr.^a Ana Rico, à Dr.^a Alda Morais, ao Dr. Guillaume Tróia, ao Sr. Vítor Santos e à Andreia Pestana, por me terem recebido de braços abertos.

Às minhas colegas de estágio por todos os bons momentos partilhados.

À Farmalabor e toda a equipa, principalmente à do Controlo de Qualidade e à Dr.^a Carla Paiva por me ensinarem a trabalhar num Laboratório de controlo de qualidade.

À minha família, principalmente aos meus pais, irmão e prima por todo o apoio que me deram.

Aos meus amigos e namorado pela paciência, ajuda e força em todos os momentos.

A Coimbra, a eterna cidade dos estudantes que me permitiu fazer amizades inesquecíveis.

A todos, um sincero Obrigado.

ÍNDICE

A. Relatório de Estágio de Farmácia Comunitária	1
I. LISTA DE ABREVIATURAS	2
1. Introdução.....	3
2. Análise SWOT	4
2.1. Pontos Fortes.....	4
2.1.1. Localização.....	4
2.1.2. Integração na Equipa de Trabalho.....	4
2.1.3. Planificação do Estágio.....	4
2.1.4. Autonomia.....	5
2.1.5. Organização por Grupo Farmacológico.....	5
2.1.6. Contacto com o Sistema Informático.....	6
2.1.7. Dispensa de Medicamentos para Instituições.....	6
2.1.8. Medicamentos Psicotrópicos e Estupefacientes.....	6
2.1.9. Conferência e Organização de Receituário.....	7
2.1.10. Consultas de Nutrição.....	7
2.1.11. Determinação dos Parâmetros Fisiológicos e Bioquímicos	8
2.1.12. Formação Contínua.....	8
2.1.13. Aplicação dos Conhecimentos Adquiridos na Faculdade.....	8
2.2. Pontos Fracos.....	9
2.2.1. Manipulados.....	9
2.2.2. Número Excessivo de Estagiários	9
2.2.3. <i>Stock</i> Reduzido e Pouca Diversidade de Dermocosméticos.....	9
2.2.4. <i>Robot</i>	10
2.2.5. Dose Unitária.....	10
2.3. Oportunidades	10
2.3.1. Grupo de Farmácias	10
2.3.2. Contacto com Diversas Realidades.....	10
2.3.3. Gerir Conflitos	11
2.3.4. Intervir na Organização da Farmácia.....	11
2.3.5. Gestão de <i>Stock</i> e Prazos de Validade	12
2.4. Ameaças.....	13
2.4.1. Conhecimento nas Áreas de Dermocosmética, Puericultura, Veterinária... 13	
2.4.2. Elevado Número de Farmácias	13
2.4.3. Falta de Consulta de Revisão da Terapêutica e de Acompanhamento Farmacoterapêutico.....	13
2.4.4. Venda de MNSRM fora das farmácias	13
2.4.5. Condições Externas	14
3. Conclusão.....	15
4. Referências Bibliográficas.....	16

B. Relatório de Estágio de Indústria Farmacêutica	18
I. LISTA DE ABREVIATURAS	19
1. Introdução.....	20
2. Análise SWOT	21
2.1. Pontos Fortes.....	21
2.1.1. Receção e Planeamento do Estágio	21
2.1.2. Formação sobre Ambiente e Segurança.....	21
2.1.3. Equipa.....	22
2.1.4. Boas Práticas Laboratoriais.....	22
2.1.5. Formação sobre substâncias de Referência e reagentes.....	23
2.1.6. Formação sobre como atuar em caso de resultados OOS	23
2.1.7. Matérias Primas	24
2.1.8. Produto acabado	24
2.1.9. Aplicação de conhecimentos teóricos e práticos.....	25
2.2. Pontos Fracos.....	25
2.2.1. Manuseamento do HPLC	25
2.2.2. Estágio em outras áreas do CQ	26
2.2.3. Curta duração do estágio	26
2.3. Oportunidades	26
2.3.1. Estágio em Indústria Farmacêutica.....	26
2.3.2. Pertence ao Grupo Medinfar	26
2.3.3. Estágio em Controlo de Qualidade	27
2.3.4. Desenvolvimento de capacidades	27
2.3.5. Auditorias	28
2.4. Ameaças.....	28
2.4.1. Outros Profissionais.....	28
2.4.2. Novos Mercados.....	29
3. Conclusão.....	29
4. Referências Bibliográficas.....	30

C. Importância dos transportadores no controlo da exposição fetal a xenobióticos.....	31
I. LISTA DE ABREVIATURAS	32
II. LISTA DE TABELAS	33
III. LISTA DE FIGURAS	33
IV. RESUMO.....	34
V. ABSTRACT	35
1. Introdução.....	36
1.1. A gravidez e fases de desenvolvimento fetal.....	36
1.2. A placenta: estrutura, funções e mecanismos de transporte.....	38
2. Transportadores da Placenta.....	40
2.1. Transportadores de efluxo: <i>ATP-binding cassette</i> (ABC).....	40
2.1.1. ABCB: glicoproteína-P (ABCB1)	41
2.1.2. ABCC: proteínas associadas à resistência a múltiplos fármacos (MRPs).....	43
2.1.3. ABCG: <i>Breast cancer resistance protein</i> (BCRP; ABCG2)	44
2.2. Transportadores de soluto (SLC): OATs, OCTs, OCTNs, OATPs.....	45
3. Avaliação experimental da passagem dos compostos através da placenta	50
3.1. Modelos <i>in vitro</i> : culturas humanas primárias de trofoblasto, linhas celulares de trofoblasto humano (BeWo, JAR, JEG)	50
3.2. Modelos animais	53
3.3. Perfusão placentária humana (<i>ex-vivo</i>).....	54
3.4. Avaliação das concentrações plasmáticas.....	55
4. Considerações Finais	58
5. Referências Bibliográficas.....	60
6. Anexo I - Método de perfusão placentária realizado na Universidade de Toronto, Canada (60).....	68

A. Relatório de Estágio de Farmácia Comunitária

Farmácia Central

Dr.^a Ana Maria Martins Rico

I. LISTA DE ABREVIATURAS

ANF – Associação Nacional de Farmácias

FC – Farmácia Central

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

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

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

MSRM – Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

OF – Ordem dos Farmacêuticos

SNS – Sistema Nacional de Saúde

SP – Saúde Pública

SWOT – *Stregths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I. Introdução

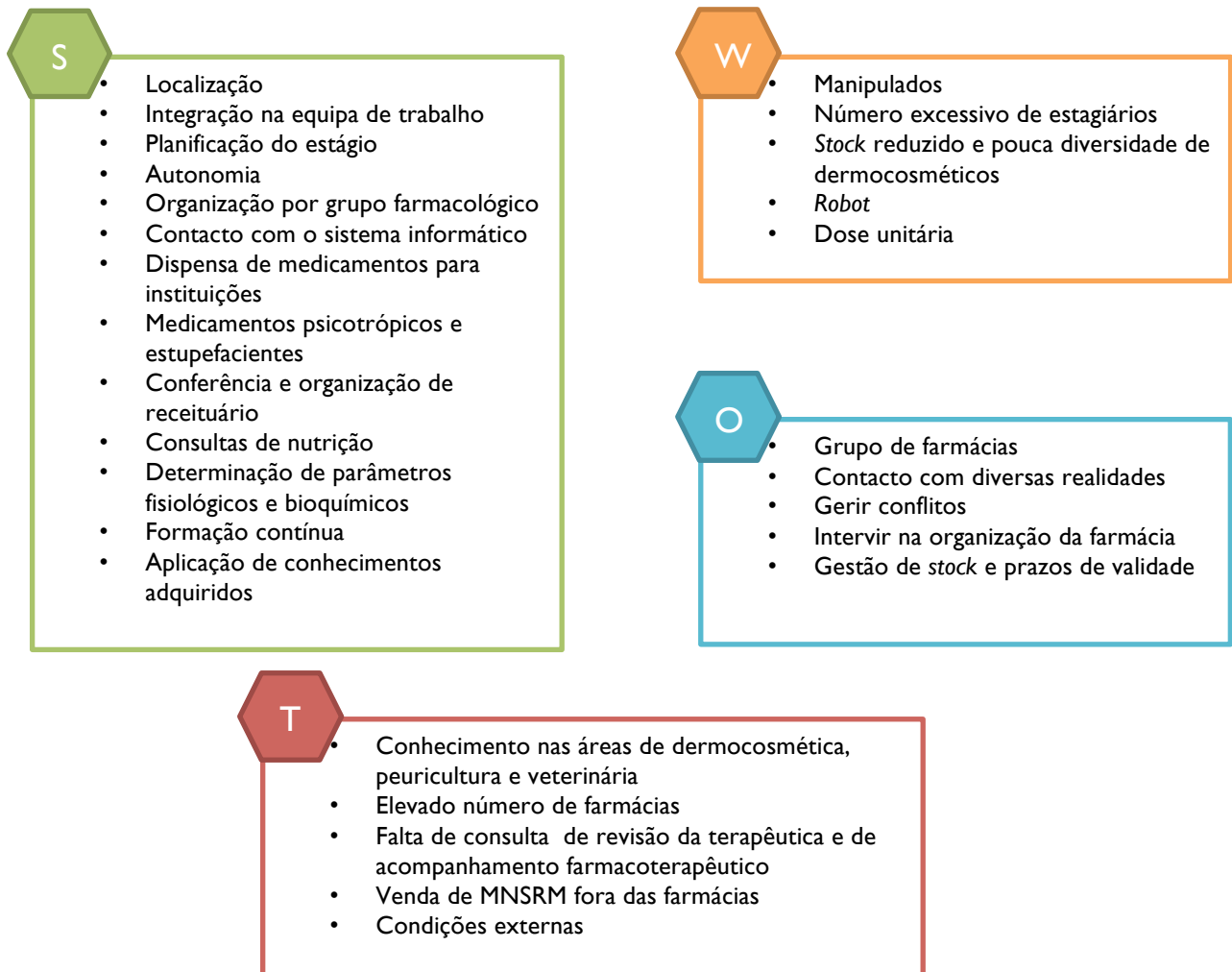
O farmacêutico é o profissional de saúde especialista do medicamento que desenvolve atividades que contribuem para a promoção da Saúde Pública (SP), como prestar informação e sensibilizar para o uso racional do medicamento (1).

A farmácia comunitária tem como principal objetivo a cedência de medicamentos com o menor risco e avaliação dos resultados clínicos obtidos (2).

O estágio curricular é essencial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas e para consolidar o conhecimento científico e técnico obtido.

O relatório é feito com base na metodologia de análise SWOT. Esta análise aborda os pontos fortes e fracos, assim como as oportunidades e as ameaças sentidas (3) no estágio de farmácia comunitária, realizado na Farmácia Central (FC).

O estágio decorreu entre o dia 8 janeiro a 30 de abril de 2018 na FC, sob a supervisão da Diretora Técnica Dr.^a Ana Maria Martins Rico. Durante o estágio fui acompanhada pela Diretora Técnica, pelo Dr. Guillaume Tróia, a Dr.^a Alda Lindo, o Sr. Victor Santos, Técnica de farmácia Andreia Pestana e pelas minhas colegas de estágio Sandra Soeiro, Ana Baptista e Ana Penas.



2. Análise SWOT

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Localização

A FC é uma das mais antigas de Coimbra, localiza-se na Rua da Sofia, e já existe neste local desde 1830. A Rua da Sofia foi construída em 1535, na época uma das maiores Ruas da Europa, e foi classificada como património Mundial da UNESCO em 2013, juntamente com a Universidade e a Alta de Coimbra (4). Atualmente, é uma das ruas mais movimentadas da cidade devido ao aumento do turismo.

Apesar do comércio na baixa de Coimbra ter vindo a diminuir, os comerciantes desta rua não se têm acomodado. Prova disso foi a união das mulheres trabalhadoras desta rua na comemoração do dia 8 de março, dia internacional da Mulher. Neste dia, as mulheres desta rua – incluindo as da FC – vestiram uma camisola com a frase “toda a Mulher é uma rainha”, de forma a elucidar a população da quantidade de mulheres que nesta rua trabalham e do seu esforço por manter viva uma das ruas mais antigas e bonitas desta cidade.

A localização da farmácia permite ter contacto com turistas que se encontrem de passagem, mas também com utentes regulares da FC, que constituem a maioria dos habitantes da baixa. Além dos habitantes da baixa, a farmácia tem também clientes que moram em áreas da periferia e que se deslocavam à FC devido à ausência de farmácias na sua área de residência e pela deslocação a Coimbra para tratar de outros assuntos. Os utentes habituais são principalmente idosos.

2.1.2. Integração na Equipa de Trabalho

A equipa da FC trabalha para um objetivo comum que é a prestação de cuidados e aconselhamentos em saúde, cada vez melhores, aos seus utentes. Toda a equipa mostrou-se sempre disponível a responder a questões, partilhar conhecimentos e novas ideias.

Desde o primeiro dia de estágio que me senti integrada na equipa e que me foram dadas tarefas e objetivos de acordo com as minhas competências. Assim como me foi permitido progredir ao meu ritmo.

Na FC pude perceber o que é uma verdadeira equipa e espírito de entreatajuda.

2.1.3. Planificação do Estágio

Apesar de não existir um plano de estágio por escrito, este foi orientado de maneira a assegurar o desenvolvimento gradual de conhecimentos e capacidades. Nas primeiras semanas na FC estava encarregue de dar entrada de encomendas e de arrumar os

medicamentos. Esta função permitiu ter uma noção dos medicamentos mais dispensados, das margens, local de armazenamento e nome comercial. Também revii mecanismos de ação, grupos farmacoterapêuticos, indicação terapêutica e posologia mais frequente.

Após observar atendimentos da equipa da FC e assim que me senti preparada pude prosseguir para o atendimento, acompanhada por um membro da equipa. As instruções dos farmacêuticos foram fundamentais para evoluir e desenvolver um atendimento adequado a cada utente.

2.1.4. Autonomia

Ao longo do estágio, a equipa da FC sempre promoveu a autonomia. No início do desempenho de novas tarefas era feito um acompanhamento da minha atividade, contudo, assim que sentiram que estava preparada, pude realizar tarefas autonomamente, tal como: receção de encomendas, armazenamento dos produtos farmacêuticos, atendimento e organização da farmácia.

Nunca me foram impostos prazos de permanência em determinado setor e sempre me foi permitido evoluir ao meu ritmo.

Considero que a autonomia dada pela equipa foi fundamental no meu processo de aprendizagem.

2.1.5. Organização por Grupo Farmacológico

Na FC, contrariamente ao que acontece nas outras farmácias, a organização dos medicamentos nas gavetas é feita por grupo farmacológico e não por ordem alfabética.

Este método mostrou-se vantajoso, uma vez que permitia associar o princípio ativo e o grupo farmacoterapêutico. Apesar de nos primeiros dias a arrumação dos medicamentos após a receção ter sido complicada pela falta de conhecimento de nomes comerciais e por esquecimento das indicações terapêuticas de alguns princípios ativos, mais tarde, no momento em que passei ao atendimento, revelou-se muito benéfica.

Quando surgiam dúvidas do grupo farmacoterapêutico consultava o Prontuário Terapêutico de 2010, o Infomed ou o Sifarma 2000[®]. Durante estas consultas ao Sifarma 2000[®], eu e a minha colega de estágio, constatámos que as gavetas indicadas neste programa estavam desatualizadas, pelo que procedemos à alteração da informação da arrumação de todos os medicamentos das gavetas.

Os primeiros dias de estágio foram passados a ver o que se encontrava em cada gaveta e a recordar conhecimentos adquiridos nas unidades curriculares de Farmacologia.

Esta organização facilitou e tornou mais rápida a minha resposta quando questionada pelos doentes se determinado medicamento para uma determinada patologia estava na receita ou para que servia o medicamento em causa. Além disso, obrigava-me a refletir nas patologias que o doente apresentava e possíveis interações medicamentosas entre grupos.

2.1.6. Contacto com o Sistema Informático

O programa desenvolvido pela *Glintt*, Sifarma 2000[®], é uma ferramenta de gestão e atendimento (5) importantíssima, pois permite a realização de diversas tarefas, como: gestão do stock, criação de fichas de utentes, vendas, encomendas, transferências, etc.

No atendimento, permite verificar o stock, posologia, reações adversas, contraindicações, entre outras informações importantes. Este programa obriga a confirmar os códigos no final da dispensa evitando assim erros humanos, tais como confusão entre dosagens ou formas farmacêuticas. Este tipo de erro é comum devido à semelhança entre os acondicionamentos secundários e traz problemas para o utente, bem como para a farmácia a nível de stock e financeiro.

Com este programa é possível consultar vendas realizadas por produto, utente, data e utilizador, assim como anular vendas ou reimprimir documentos.

2.1.7. Dispensa de Medicamentos para Instituições

A FC dispensa medicamentos para os utentes de um lar e de uma unidade de cuidados continuados.

A dispensa de medicamentos a esta instituição permitiu, numa fase inicial do estágio, praticar a utilização do Sifarma 2000[®] sem a pressão exercida pela presença do utente.

2.1.8. Medicamentos Psicotrópicos e Estupefacientes

Os medicamentos psicotrópicos e estupefacientes são substâncias extremamente importantes na terapêutica de doenças psiquiátricas, oncológicas ou como antitússicos e analgésicos, uma vez que atuam sobre o sistema nervoso central e o deprimem ou estimulam. No entanto, estão muitas vezes associados a atos ilícitos, visto que estas substâncias podem induzir habituação e dependência física ou psíquica (6).

No estágio tive oportunidade de dispensar e de contactar com o controlo realizado à dispensa destes medicamentos.

Fui alertada para os pontos fundamentais na dispensa destes medicamentos que são: a identificação do médico (nome e número da ordem), número da receita, identificação do

medicamento dispensado (nome e número de registo), quantidade dispensada, informação do doente (nome, morada), do adquirente (nome, morada, número e data de validade do cartão de identificação, data de nascimento), fotocópia da receita quando esta é manual e guardar o documento de psicotrópicos.

Em 2015, na circular informativa N.º 166/CD/100.20.200 emitida pelo INFARMED, I.P. com o objetivo de harmonizar a forma e frequência de envio das informações relativas aos psicotrópicos e estupefacientes, foi estabelecido que a farmácia devia enviar as cópias das receitas manuais e as listas das receitas dispensadas, por *email* mensalmente até dia 8, e que, anualmente, até dia 31 de janeiro tem de ser enviado o registo das entradas e saídas, os totais armazenados e os utilizados durante o ano, bem como qualquer diferença, relativamente aos registos anteriores (7).

Também pude, observar a conferência dos documentos de registo de estupefacientes e psicotrópicos e ao seu envio mensal (8).

2.1.9. Conferência e Organização de Receituário

Pude proceder ao processamento do receituário, sob supervisão, aí aprendi a verificar os planos, as exceções, número de beneficiário, assinatura do médico, utente e farmacêutico, data de prescrição e de dispensa, carimbo da farmácia e conformidade dos medicamentos prescritos/cedidos. Posteriormente, procedeu-se à organização dos lotes, de modo a facilitar o fecho dos mesmos.

Também aprendi a realizar o fecho dos lotes, que é efetuado no último dia de cada mês, e que é posteriormente enviado para o Centro de conferência de faturas do Sistema Nacional de Saúde (SNS).

2.1.10. Consultas de Nutrição

A FC dispõem de consultas de nutrição da Dieta EasySlim, que tem como objetivo o combate ao excesso de peso e à obesidade. As consultas eram realizadas por uma nutricionista todas as semanas de forma a reeducar os hábitos alimentares.

Esta dieta é constituída por 3 fases. A primeira fase consiste num emagrecimento acelerado. Nesta fase há indução/aceleração do metabolismo para queimar as gorduras. A segunda fase consiste num emagrecimento continuado até esgotar as reservas de gordura. Na terceira fase, há gestão e manutenção do peso ideal. Esta dieta inclui a toma de suplementos alimentares para compensar os défices nutricionais da restrição alimentar e para promover a perda de peso (9).

A nutricionista, explicou-nos quem era o público-alvo, as fases do programa e os produtos disponíveis para auxiliar e promover a perda de peso.

2.1.11. Determinação dos Parâmetros Fisiológicos e Bioquímicos

Os parâmetros bioquímicos e fisiológicos determinados na FC são: glicémia, colesterol total e pressão arterial. A equipa orientou-me na medição destes parâmetros e no aconselhamento aos doentes, de acordo com os valores obtidos. Alertou-me também para a necessidade de sensibilizar a população para a importância da determinação destes valores e para a necessidade de fazer perguntas como: “toma medicação?”, “que medicação toma?”, “há quanto tempo toma?” e “os valores obtidos são semelhantes aos obtidos na ultima medição?”.

A determinação destes parâmetros permitiu melhorar a minha destreza na realização destas medições, técnicas de comunicação e realizar um aconselhamento farmacêutico dirigido.

2.1.12. Formação Contínua

O farmacêutico deve, de forma a fazer cada vez mais e melhor pela SP, realizar uma aprendizagem contínua. A formação contínua foi claramente um ponto forte do meu estágio. Esta foi feita tanto pela equipa da FC como pela participação em formações creditadas pela Ordem dos Farmacêuticos (OF) ou por delegados de informação médica. Tive oportunidade de frequentar as seguintes formações: a “Deficiência do Selénio em Portugal” e “Suplementos Alimentares”, promovidas pela PharmaNord; “Farmácia e aconselhamento à mulher no atendimento”, promovida pela Gedeon Richter; “Psoríase”, promovida pela Leo Pharma. Estas formações permitiram-me conhecer novos produtos e gamas, assim como aconselhamento a prestar na dispensa destes produtos de saúde.

2.1.13. Aplicação dos Conhecimentos Adquiridos na Faculdade

O estágio na FC foi o segundo contacto que tive com a profissão de farmacêutico de oficina e permitiu-me recordar e aplicar os conceitos teóricos da faculdade em contexto prático no momento do atendimento.

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. Manipulados

Os medicamentos manipulados podem ser considerados, formulas magistrais quando preparados de acordo com uma receita médica especifica para o doente a que se destina, ou preparados officinais quando o medicamento é preparado de acordo com uma farmacopeia ou formulário (10).

A FC não possui as condições adequadas para proceder à elaboração de manipulados. Essas condições estão definidas na Portaria nº 594/2004, de 2 de Junho e na Deliberação nº 1500/2004, 7 de Dezembro. No estágio não foi possível rever e pôr em prática os conhecimentos adquiridos na unidade curricular de Farmácia Galénica.

2.2.2. Número Excessivo de Estagiários

A FC, no período de janeiro a abril, recebeu quatro estagiárias. Duas no período de janeiro-abril, uma com início em março e outra em abril.

Apesar de considerar que a partilha de conhecimentos e de experiências com outras estagiárias durante o estágio tenha sido uma mais-valia, por vezes existiam tempos mortos e falta de espaço na FC, quer para circular quer para realizar atendimentos. Considero que o meu estágio foi mais proveitoso no início, em que apenas éramos duas estagiárias, porque a atenção dispensada pela equipa era superior, assim como o tempo ao balcão.

2.2.3. Stock Reduzido e Pouca Diversidade de Dermocosméticos

A FC possui um *stock* reduzido tendo muitas vezes necessidade de pedir emprestado a outra farmácia, transferir produtos entre as farmácias do grupo e jogar com o horário de entrega das encomendas de forma a responder às necessidades dos clientes o mais rápido possível.

Os clientes da FC são sobretudo pessoas idosas, pelo que a rotação dos produtos de dermocosmética é reduzida e a FC não dispõem de gamas completas. Apesar disso, a FC reapostou na marca *B-lift*, uma vez que esta apresenta produtos de elevada qualidade e não é vendida pelas farmácias envolventes. No estágio, tive oportunidade de ter uma formação sobre os produtos desta marca, na qual foi explicada a ação exercida pelos constituintes, bem como os produtos aconselháveis de acordo com o tipo de pele.

2.2.4. Robot

O *robot* é um sistema automatizado que substitui as gavetas e permite reduzir o espaço de armazenamento (11). Uma vez que a FC possui um *stock* e uma rotação reduzida não há necessidade de adquirir um *robot*.

Considerarei como ponto fraco porque nunca tive oportunidade de contactar com a realidade de ter um *robot*, que considero que terá certas nuances, quer no momento da receção de encomendas quer no atendimento.

2.2.5. Dose Unitária

Na FC não é preparada a medicação em dose unitária, que consiste em colocar numa caixa ou recipiente os medicamentos separados por dia e hora de toma. Neste serviço, o farmacêutico tem de garantir a conservação, de forma a que se garanta a integridade, qualidade, eficácia e segurança (2). Este serviço poderia ser uma mais-valia quer para a FC enquanto fator distintivo e de fidelização dos clientes quer para os utentes de forma a promover a adesão à terapêutica e evitar erros de duplicação da dose. Este serviço seria também vantajoso para a FC pelo facto de a sua população ser envelhecida. Durante o estágio pude ver que a FC deseja contemplar este serviço e que apenas falta investir nos materiais e condições necessárias para cumprir as Boas Práticas Farmacêuticas.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Grupo de Farmácias

A FC pertence a um grupo constituído por mais duas farmácias. Este grupo fazia transferências de medicamentos e de outros produtos de saúde entre as diversas farmácias. Isto era vantajoso quando os medicamentos se encontravam esgotados nos armazenistas mas alguma das farmácias ainda possuía em *stock*, pois as transferências permitiam dar uma resposta mais rápida aos nossos utentes. Para além disso, o facto de pertencer a um grupo de farmácias também traz vantagens económicas, pois permitia comprar em maior quantidade e depois distribuir pelas farmácias.

2.3.2. Contacto com Diversas Realidades

Neste estágio, tive a oportunidade de contactar com realidades diversas, o que me permitiu crescer a nível profissional e pessoal. Sensibilizou-me para a realidade vivida em Portugal, que é uma população envelhecida, com múltiplas patologias e dificuldades económicas.

Permitiu-me também contactar com pessoas toxicodependentes e perceber que esta realidade está bem perto.

Para além disso, o contacto permanente com pessoas com diferentes níveis de escolaridade permitiu-me desenvolver capacidades para adaptar a minha comunicação verbal.

2.3.3. Gerir Conflitos

A farmácia de oficina é um local de atendimento e aconselhamento ao público, pelo que muitas vezes surgem conflitos que o farmacêutico tem de resolver da melhor maneira possível. Os conflitos mais comuns na FC foram devido às receitas sem papel por falência do sistema, mas também devido a problemas de *stock*, como não ter o medicamento prescrito ou ausência do genérico com o preço mais barato que vem indicado nas guias de tratamento.

Apesar de as receitas sem papel apresentarem vantagens para o doente como: poder optar por aviar todos os produtos prescritos, ou apenas parte deles, sendo possível levantar os restantes em diferentes farmácias e em datas distintas; assim como para a farmácia: não necessitam de conferência de receituário (12).

As receitas sem papel apresentam algumas desvantagens. Exemplo disso é que, quando estas são enviadas por SMS, a informação prestada ao utente é reduzida, uma vez que não consta o que está prescrito, quantidade e validade da prescrição sem abrir a receita no Sifarma 2000[®], pelo que acaba por gerar conflitos porque muitas vezes as pessoas pensam que ainda tem produtos de saúde na receita por aviar ou que ainda está dentro da validade e não está. O maior problema das receitas sem papel é quando o sistema de receitas eletrónicas falha, o que torna impossível dispensar e os utentes são pouco compreensivos a esta situação. O farmacêutico, nestas situações, tem de explicar, apelar à compreensão dos utentes e arranjar uma solução para este problema. Apesar de considerar proveitosa a implementação deste tipo de receitas, penso que têm de ser reunidos esforços para que as falhas do sistema sejam cada vez menos frequentes.

A tentativa de aquisição de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM), principalmente antibióticos e benzodiazepinas sem receita gerava muitas vezes conflitos em que o farmacêutico tinha de apelar ao bom senso do utente e sugerir alternativas.

2.3.4. Intervir na Organização da Farmácia

A equipa da FC fez o desafio de apresentarmos uma proposta para alterar a organização dos produtos dispostos, nos lineares da farmácia. Para cumprir este desafio foi-

nos aconselhado ler o guia da Associação Nacional de Farmácias (ANF). Após a leitura deste e de refletir sobre a possível adaptação da teoria à realidade da FC, apresentámos a proposta e a justificação das nossas decisões à equipa da FC.

Esta intervenção foi claramente uma oportunidade, porque para além de nos incentivar a ser autónomas e pró-ativas, sentimos que fazíamos realmente parte da equipa e que a nossa opinião era relevante.

2.3.5. Gestão de Stock e Prazos de Validade

Fui incentivada a desenvolver espírito crítico através de questões sobre quais os produtos de saúde que sofriam maior rotação em determinadas alturas do ano, noites de serviço e festividades.

Tive oportunidade de ver e posteriormente realizar encomendas diárias e de perceber a necessidade de verificar a rotatividade dos produtos e de estabelecer o *stock* máximo e mínimo e adaptá-lo à realidade da farmácia. Assim como, a importância de verificar se determinado produto tinha alguma condição especial num dos fornecedores, de forma a rentabilizar o lucro obtido com a venda destes.

A FC trabalha com três fornecedores que fazem duas entregas diárias. Como a FC tem um espaço de armazenamento pequeno, nem sempre tínhamos os produtos ou a quantidade que o cliente necessitava. Como tal, fui orientada de maneira a verificar a disponibilidade do fornecedor, encomendar, realizar a reserva dos produtos solicitados e entregar o talão da reserva ao cliente para que este pudesse posteriormente levantar os produtos.

No entanto, penso que poderiam ser implementadas medidas na gestão das reservas, como ligar ou enviar mensagem ao cliente a informar que a sua reserva já tinha chegado, organizar as reservas do cliente por ordem alfabética e separar as reservas por tempo com código de cores, em que o verde seria reservas com uma semana, amarelo reservas com 2 semanas e vermelho reservas com 3 semanas.

A gestão dos prazos de validade, era feita todos os meses, com o intuito de sinalizar todos os produtos cuja validade expirava dentro de 6 meses e eram retirados os medicamentos cuja validade expirava no mês seguinte e os produtos veterinários e com protocolo para diabetes cuja validade expirava dentro de 6 meses. Os produtos indicados anteriormente eram devolvidos ao fornecedor ou ao laboratório. No caso de serem devolvidos por estes, iam para quebras, constituindo perdas financeiras para a farmácia. Também fui alertada para o princípio *first in first out*, assim como para a necessidade de

alterar os prazos de validade no momento da receção de encomendas, quando não tínhamos o produto em *stock* ou quando a validade era inferior à indicada no sistema.

A gestão do *stock* e dos prazos de validade é importante para evitar perdas financeiras e a dispensa de medicamentos em fim de validade.

2.4. Ameaças

2.4.1. Conhecimento nas Áreas de Dermocosmética, Puericultura, Veterinária

Durante o estágio, constatei que apresento lacunas de conhecimento em aconselhamento em dermocosmética, puericultura e veterinária. Considero que o plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) necessita de ser revisto de forma a fornecer mais bases para facilitar o aconselhamento nestas áreas. Penso que a resolução de casos clínicos seria vantajoso.

2.4.2. Elevado Número de Farmácias

O elevado número de farmácias ao redor da FC constitui uma ameaça, visto que quando uma não possui determinado produto de saúde as pessoas deslocam-se a outra à procura do mesmo, assim como quando uma farmácia tem todos os balcões de atendimento ocupados.

2.4.3. Falta de Consulta de Revisão da Terapêutica e de Acompanhamento Farmacoterapêutico

Na FC não são realizadas consultas de revisão da terapêutica nem de acompanhamento farmacoterapêutico. Além disso, não são utilizadas as funcionalidades do Sifarma 2000[®] para guardar dados de parâmetros físicos e bioquímicos.

Considero que a implementação destas medidas seria benéfico para a FC, uma vez que poderia levar à fidelização de clientes e ser um fator distintivo das farmácias envolvidas. Este serviço também iria permitir estabelecer uma relação mais estreita com outros profissionais de saúde como médicos.

2.4.4. Venda de MNSRM fora das farmácias

Segundo o Decreto-Lei n.º 134/2005, de 16 de agosto, os medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) podem ser vendidos em locais que cumpram os requisitos legais e regulamentares após registo no INFARMED, I.P. .

A implementação da liberalização da venda de MNSRM tinha como objetivo facilitar o acesso ao medicamento. No entanto, esta medida tem impacto quer para as farmácias comunitárias quer para a SP, uma vez que esta medida incentiva a automedicação (13).

A FC é afetada por esta medida, pois existem 2 locais de venda de MNSRM a uma distância de 250 metros.

De forma a contrariar a banalização da venda de MNSRM, surge uma lista de MNSRM que apenas podem ser dispensados na farmácia como acetato de ulipristal, ácido acetilsalicílico, ácido fusídico, entre outros (14).

Na FC fiz aconselhamento a uma jovem de cerca de 20 anos que entrou na farmácia com ar preocupado, pediu-me a pílula do dia seguinte e eu fiz um conjunto de questões para avaliar a necessidade desta recorrer à contraceção de emergência: “quando foi a última menstruação?”; “há quantas horas tinha sido a relação sexualmente desprotegida?”. A jovem respondeu-me que tinha tido o período há sensivelmente uma semana, que não se encontrava a tomar a pílula ou utilizar outro método contraceptivo e que a relação sexual tinha ocorrido há pelo menos de 36 horas. Após avaliar a situação, dispensei-lhe a pílula contendo 30 mg de acetato de ulipristal (ellaOne) com os seguintes alertas: de que a pílula do dia seguinte não é para ser usada como método contraceptivo, que se era sexualmente ativa deveria ter sempre relações protegidas, não só pelo facto de poder ter uma gravidez indesejada como também pelo risco de contrair doenças sexualmente transmissíveis e ir a uma consulta de planeamento familiar, de forma a encontrar o método mais eficaz para ela; que se vomitar ou tiver diarreia até 3 horas após a toma, deve tomar outro comprimido e que é normal que a hemorragia surja mais tarde ou mais cedo que o habitual.

2.4.5. Condições Externas

Apesar das vantagens da localização descritas anteriormente, esta apresenta como inconveniente a ausência de estacionamento nas proximidades da farmácia e, por isso, a maioria dos utentes da farmácia desloca-se a pé ou de transportes públicos. Outro inconveniente é derivado da necessidade de ter as portas abertas para promover a entrada de clientes, que faz com que o ruído proveniente da rua dificulte a comunicação com os utentes e faça com que a FC nem sempre tenha um ambiente calmo, que é um dos requisitos do Manual das Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária da OF (2).

3. Conclusão

O Estágio Curricular realizado na FC superou as minhas expectativas e contribuiu para a minha formação profissional e pessoal. Considero que a realização deste é imprescindível para colocar em prática os conteúdos lecionados no MICF e para ter contacto com a realidade de farmacêutico de oficina. Além disso, o estágio permitiu-me adquirir novos conhecimentos que poderei aplicar no futuro.

O farmacêutico, para além de conhecimentos científicos na área do medicamento, necessita de conhecimentos de muitas outras áreas, tais como gestão, economia, legislação, informática e psicologia.

Verifiquei que os doentes muitas vezes antes de recorrerem ao médico deslocam-se à farmácia para avaliar se a situação justifica a ida ao médico. Foram várias as vezes em que encaminhamos doentes para as urgências.

No entanto, também senti que às vezes a nossa profissão não era valorizada, como por exemplo um senhor que queria Levofloxacina sem receita e que tomava um comprimido por precaução. Após lhe ter explicado que só poderia dispensar um antibiótico com receita médica e que o que fazia era errado e levava a um grande problema de SP que é a resistência bacteriana, este afirmou que já o fazia há muito tempo e que ele é que sabia o que era melhor para ele.

Considero que o futuro da profissão está nas mãos dos farmacêuticos, principalmente dos jovens como eu, que precisam de mostrar à população que esta classe é essencial na promoção da saúde.

Concluo o estágio com a certeza de que há muito a aperfeiçoar no futuro e muitos conhecimentos a adquirir de forma a proporcionar o melhor atendimento e aconselhamento ao doente.

4. Referências Bibliográficas

1. Infarmed, I.P. - **Farmacêuticos**. Infarmed. [Acedido a 25 de abril de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/licenciamentos/farmaceuticos>
2. Conselho Nacional da Qualidade - **Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária**. Ordem dos Farmacêuticos. [Acedido a 25 de abril de 2018]. Disponível na Internet: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/boas_praticas_farmaceuticas_para_a_farmacia_comunitaria_2009_20853220715ab14785a01e8.pdf
3. CARVALHO, Fernando - **Capítulo IV- A Estratégia nas Organizações**. In: LISBOA, J., COELHO, A., COELHO, F., ALMEIDA, F.. Introdução à gestão de organizações. Barcelos: Vida Económica, 2004 . ISBN: 972-788-118-1. p. 181-220.
4. Direcção Geral do Património Cultural. **Património cultural- Rua da Sofia**. República Portuguesa. [Acedido a 28 de abril de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.patrimoniocultural.gov.pt/pt/patrimonio/patrimonio-imovel/pesquisa-do-patrimonio/classificado-ou-em-vias-de-classificacao/geral/view/74886>
5. Glintt - **Sifarma**. Glintt. [Acedido a 29 de abril de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.glintt.com/pt/o-que-fazemos/ofertas/SoftwareSolutions/Paginas/Sifarma.aspx>
6. Infarmed, I.P. - **Saiba mais sobre - Psicotrópicos e Estupefacientes**. Infarmed [Acedido a 28 de abril de 2018]. Disponível na Internet: http://www.infarmed.pt/documents/%2015786/1228470/22_Psicotropicos_Estupefacientes.pdf
7. Infarmed, I.P. - **Circular informativa N.º 166/CD/100.20.200 – Registos de psicotrópicos e estupefacientes**. Infarmed
8. Administração Central do Sistema de Saúde, I.P. - **Manual de Relacionamento das Farmácias com o Centro de Conferência de Faturas do SNS**. Administração Central do Sistema de Saúde, IP [Acedido a 29 de abril de 2018]. Disponível na Internet: https://www.ccf.min-saude.pt/portal/page/portal/estrutura/documentacaoPublica/ACSS/Manual%20de%20Relacionamento%20de%20Farmacias_v1.17.pdf
9. Dieta EasySlim - **Dieta EasySlim**. Dieta EasySlim. [Acedido a 28 de abril de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.dietaeasyslim.com/dieta-easyslim/>

10. Gabinete Jurídico e Contencioso - **Portaria nº 594/2004, de 2 de Junho**. Infarmed [Acedido a 25 de abril de 2018]. Disponível na http://www.infarmed.pt/documents/15786/1070327/portaria_594-2004.pdf/d8b8cac3-3250-4d05-b44b-51c5f43b601a
11. Expofarm - **Robotización de Farmacias**. Expofarm. [Acedido a 28 de abril de 2018]. Disponível na <http://expofarm.es/robots-de-farmacia/>
12. Ministério da Saúde - **Receitas sem papel**. Ministério da Saúde. [Acedido a 30 de abril de 2018]. Disponível na Internet: <http://spms.min-saude.pt/product/receita-sem-papel/>
13. Infarmed, I.P. - **Lista de locais de venda de MNSRM**. Infarmed. [Acedido a 28 de abril de 2018]. Disponível na <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/licenciamentos/locais-de-venda-mnsrm/lista-de-locais-de-venda-mnsrm>
14. Infarmed, I.P. - **Lista de DCI identificadas pelo infarmed como MNSRM-EF e respetivos protocolos de dispensa**. Infarmed. [Acedido a 29 de abril de 2018]. http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/alteracoes_transferencia_titular_aim/lista_dci

B. Relatório de Estágio de Indústria Farmacêutica

Farmalabor

Dr.^a Carla Cristina Albano Dias Paiva

I. LISTA DE ABREVIATURAS

BPF – Boas Práticas Farmacêuticas

BPL – Boas Práticas de Laboratório

CQ – Controlo de Qualidade

CV – Coeficiente de Variação

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

HPLC – *High performance liquid chromatography*

ISO – *International Organization for Standardization*

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MP – Matérias-primas

OOS – *Out-of-specification*

PA – Produto Acabado

SV – Desvio Padrão

SWOT – *Streghs, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I. Introdução

O estágio curricular na Indústria Farmacêutica Farmalabor teve início no dia 3 de maio de 2018 e findou no dia 27 de julho de 2018.

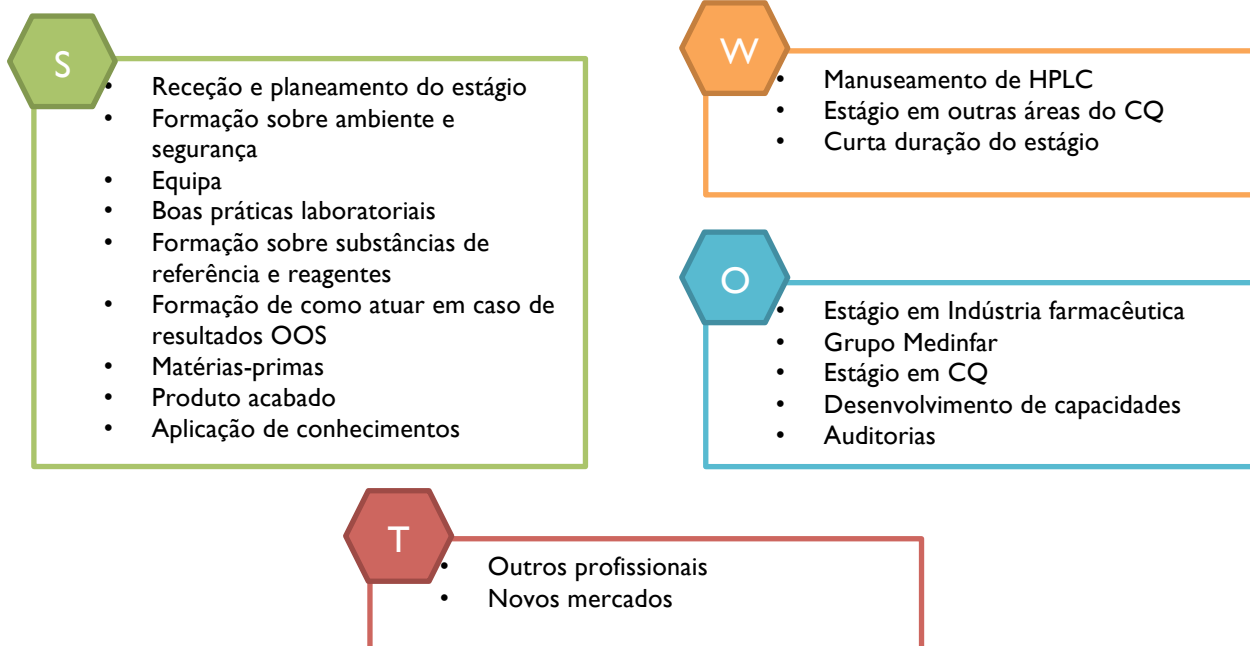
A Farmalabor é uma indústria farmacêutica que pertence ao grupo Medinfar, localizada na zona industrial de Condeixa-a-Nova. Esta unidade industrial opera principalmente em regime de *outsourcing*, também conhecido por *contract manufacturing* (1).

A unidade industrial produz formulações sólidas, líquidas e pastosas não estéreis, desde medicamentos a suplementos alimentares e a produtos cosméticos para consumo nacional e internacional (1).

A Farmalabor apresenta como vantagens o facto de ser um fabricante moderno, dinâmico, altamente competitivo e de possuir tecnologia sofisticada. A tripla certificação (ISO9001, ISO14001 e OHSAS18001) que garante a confiança na qualidade, segurança e ambiente e o cumprimento das Boas práticas Farmacêuticas (BPF) e das Boas Práticas de Laboratório (BPL), tem como finalidade atingir o principal objetivo da empresa que consiste na melhoria contínua da qualidade dos produtos e serviços a fim de satisfazer os clientes tendo em conta a responsabilidade social (1).

Durante o período de estágio na Farmalabor, estive integrada no setor de Controlo de Qualidade (CQ).

Este relatório consiste numa análise SWOT, em que são abordados os pontos fortes e fracos, assim como as oportunidades e as ameaças sentidas durante a realização do estágio (2).



2. Análise SWOT

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Recepção e Planeamento do Estágio

Fomos recebidos na Farmalabor pela Diretora dos Recursos Humanos do Grupo Medinfar, que nos fez uma breve apresentação da empresa e dos objetivos desta. Realizamos uma entrevista de grupo que permitiu selecionar qual seria o setor mais adequado ao nosso perfil. Esta receção penso que foi uma mais-valia, uma vez que nos prepara para o mundo do trabalho e para a possibilidade de ter de realizar entrevistas de grupo.

Posteriormente, a Dr.^a Sónia Heleno, Diretora técnica da unidade industrial, mostrou-nos as instalações da indústria, desde a produção de sólidos, líquidos e semissólidos, acondicionamento e controlo de qualidade. Esta visita permitiu-me ter uma visão geral do que se faz em cada setor, bem como a localização de cada um. Possibilitou-nos, ainda, conhecer as medidas de proteção de contaminação presentes na produção, como o vestuário e a existência de diferencial de pressão (de 5 a 20 Pa), sendo as zonas limpas as que apresentam maior pressão, de forma a que o fluxo de ar circule da zona limpa para a zona menos limpa e não o contrário.

Os primeiros dias foram passados a familiarizar-me com o sistema de documentação da Farmalabor, através da leitura de procedimentos e de documentos internos.

Antes de iniciar o meu estágio no laboratório de CQ, estive 3 semanas a atualizar tabelas de estabilidades e só posteriormente passei para o laboratório, onde estive 2 semanas no produto acabado (PA) e o restante nas matérias-primas (MP).

2.1.2. Formação sobre Ambiente e Segurança

Com o intuito de adotar os princípios da proteção do ambiente, prevenção da poluição e uso sustentável de recursos, assim como medidas para prevenir os riscos profissionais e ambientais, foi-nos dada uma formação sobre ambiente e segurança, pelas responsáveis destes setores. Nesta formação foram-nos explicados os riscos laborais de cada uma das áreas.

No CQ, as medidas de higiene, saúde, segurança e ambiente têm como objetivo evitar contaminações, incidentes e doenças de trabalho. Os fatores de risco são físicos, químicos e biológicos. Como dispositivos de prevenção, foram fornecidos pela empresa vestuário, óculos e máscara com filtros. Regras como apanhar o cabelo; lavar as mãos depois de terminar; não fumar/comer/beber; usar aerossóis nas *hottes* são também imprescindíveis no Laboratório de CQ. Na Farmalabor não são manuseadas preparações biológicas, citostáticos e hormonas.

Nos computadores do CQ era possível aceder às fichas de dados de segurança dos produtos manuseados e com a leitura destas, nomeadamente do ponto 8, era possível saber os riscos a que estávamos sujeitos e medidas a tomar para nos proteger a nós próprios e aos que nos rodeiam.

O laboratório de CQ está equipado com equipamentos de emergência como lava-olhos, chuveiro, extintores de dióxido de carbono e espuma, manta de extinção, caixa de primeiros socorros, entre outros, na eventualidade de algum acidente ocorrer.

2.1.3. Equipa

A equipa do CQ é multidisciplinar e altamente qualificada. Apesar de esta estar dividida em material de acondicionamento, laboratório físico-químico (analisa MP e PA), microbiologia e controlo em processo é notório um grande espírito de entreatajuda e cooperação.

A disponibilidade e simpatia demonstradas pelos colaboradores, em especial pelos membros da equipa do CQ, foram fundamentais para que melhor pudesse compreender e integrar a equipa e me sentisse confortável e motivada a desenvolver as minhas atividades.

A equipa mostrou-se sempre disponível para me auxiliar e esclarecer as dúvidas que surgiam durante a realização dos procedimentos ou o contacto com equipamentos. O fato de ter passado pelos setores da MP e pelo PA permitiu-me conhecer melhor diferentes elementos da equipa.

A equipa liderada pela Dr.^a Carla Cristina Albano Dias Paiva é composta pela Eng.^a Olga Santos, Eng.^a Ana Silva e Eng.^a Cidália Fernandes, por Patrícia Jesus, pelos técnicos analistas das MP: Isabel Querido, Diana Silva, Cátia Pinto e Ana Rita Oliveira, pelos analistas do PA: Ana Sargento, Elisabete Ribeiro, Eduardo Branco, Isabel Travasso, Cátia Sequeira e Carlos Santana e pela responsável da limpeza do material de laboratório, Berta Batista.

Considero que a equipa do CQ foi fulcral para o sucesso do meu estágio, pois receberam e integraram-me, assim como também se mostraram sempre disponíveis em me ensinar de forma a que pudesse enriquecer os meus conhecimentos. Foi um privilégio ter feito parte desta equipa durante 3 meses.

2.1.4. Boas Práticas Laboratoriais

Apesar de no Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) termos tido contacto com as BPL na unidade curricular de Gestão a Garantia da Qualidade, penso que este estágio permitiu-me compreender a importância destas e aplicá-las.

Exemplo disso é a necessidade de no laboratório estar tudo devidamente documentado e validado, desde procedimentos, a preparação de soluções, utilização de reagentes, entre outros (3).

A utilização e calibração dos equipamentos são documentadas em *logbooks*, que são livros de registos ordenados cronologicamente e que definem o histórico de utilização, permitindo rastrear.

2.1.5. Formação sobre substâncias de Referência e reagentes

No início do estágio tive formação sobre substâncias de referência e reagentes, que são essenciais quer para o fabrico quer no CQ.

Relativamente aos padrões, existem 4 tipos:

- Padrão de Referência - usado como padrão em doseamento, identificação e pesquisa de impurezas.
- Padrão Primário – padrão que apresenta propriedades adequadas para o uso pretendido, em que a demonstração da adequação não é feita por comparação com um padrão existente.
- Padrão Secundário – preparado em comparação com o padrão 1°.
- Padrão de Trabalho – preparado em comparação com o padrão 2° ou não está descrito na farmacopeia.

Fui alertada para a necessidade de colocar a data de abertura, assinatura e guardar no local apropriado. Estes podem ser guardados em excicador quando tem de ser armazenados à temperatura ambiente, em local fresco ou seco e no frigorífico (2 a 8°C), quando tem de ser armazenado no frio. Os padrões de psicotrópicos encontram-se segregados.

Relativamente aos reagentes fui alertada para os perigos e necessidade de consultar a ficha de segurança, o modo como estão dispostos (ácidos, bases, inflamáveis, soluções reagente, soluções aferidas,...) e a validade. A validade é de 2 meses para soluções tampão, 3 meses para soluções tituladas e 6 meses para soluções reagente.

Esta formação foi importante porque num laboratório de CQ não se trabalha sem usar reagentes e padrões.

2.1.6. Formação sobre como atuar em caso de resultados OOS

O termo *out-of-specification* (OOS) aplica-se a todos os testes de laboratório em processos que estão fora das especificações estabelecidas (4). No início do estágio, fui alertada para a possibilidade de haver resultados fora de especificação e de como atuar quando ocorre um OOS. No caso deste ocorrer é necessário investigar o porquê do

resultado estar fora do limite de especificação, de forma a determinar a causa e, se possível, exercer uma ação corretiva. Os resultados OOS podem ocorrer nas MP, produto intermédio, PA e testes de estabilidade.

A adequabilidade analítica no laboratório de CQ é analisada através do coeficiente de variação (CV) e do desvio-padrão (SD). O CV entre duas preparações de solução padrão e solução amostra tem de ser inferior a 2%.

2.1.7. Matérias Primas

Matéria-prima é qualquer substância, ativa ou não, empregue na produção de um medicamento, quer permaneça inalterável quer se modifique ou desapareça no decurso do processo (5).

O estágio de CQ permitiu-me compreender o processo que uma MP sofre desde que chega à indústria farmacêutica.

As matérias-primas são rececionadas no armazém e aguardam num local até sua verificação. Aquando da receção do lote pelo armazém é criado informaticamente um número de lote interno, este está associado a um número de item permitindo assim a identificação do produto. Após a criação do número de item, é emitido o certificado de análise que é acompanhado pelo certificado de análise do fabricante.

As amostras chegam ao laboratório identificadas (nome, lote interno, etc.) e são submetidas a análise consoante a prioridade, sendo que esta pode ser completa ou reduzida.

No final da análise, o boletim analítico do lote está preenchido com os resultados obtidos e é acompanhado pelos documentos de suporte.

O certificado de análise preenchido juntamente com toda a informação da análise do lote é submetido à apreciação da técnica responsável das MP e da responsável do CQ, para posterior aprovação.

2.1.8. Produto acabado

No PA são analisadas também misturas e o produto a granel (semiacabado). Designa-se por PA o medicamento que já passou por todas as fases de preparação, incluindo o seu acondicionamento na embalagem final. Enquanto que o produto semiacabado é obtido após as diferentes etapas de preparação da forma farmacêutica, antes de este ser acondicionado e rotulado (5).

O PA é retido pelo período da validade mais um ano e da documentação por 10 anos.

Este estágio, para além de me ter permitido compreender o processo de análise do produto acabado, permitiu também contactar com diferentes procedimentos. Tive oportunidade de fazer análises em diferentes formas farmacêuticas: a cremes, geles, comprimidos e ampolas.

2.1.9. Aplicação de conhecimentos teóricos e práticos

A realização deste estágio permitiu-me aplicar conhecimentos tanto teóricos como práticos, obtidos durante o curso de MICF.

Na análise de MP, realizei análises como medição de pH por potenciometria, titulações manuais (doseamentos, determinação da acidez ou alcalinidade), densidades relativas, reações de identificação, entre outras metodologias com que já tinha contactado antes. No entanto, tive também oportunidade de contactar com metodologias que tinha estudado teoricamente, mas com as quais não tinha tido contacto prático, designadamente espectros de infravermelho, que aprendi a analisar nas aulas de Química Farmacêutica I e II.

No PA, tive oportunidade de preparar soluções padrão e de amostra para fazer doseamentos, determinação de impurezas, uniformidade de conteúdo por *High performance liquid chromatography* (HPLC) ou por espectroscopia de ultravioleta, fazer placas de cromatografia em camada fina, entre outras.

Considero que os conhecimentos obtidos nas unidades curriculares de Química Analítica, Química Orgânica (I e II), Tecnologia Farmacêutica (I, II e III) e Métodos Instrumentais e de Análise, juntamente com o acompanhamento e explicação dos analistas de CQ, fizeram com que me tornasse autónoma com o decorrer do estágio.

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. Manuseamento do HPLC

O HPLC tem como principais objetivos identificar, quantificar e purificar os componentes individuais presentes numa mistura. Esta técnica apresenta um papel cada vez mais importante (6).

Durante a realização deste estágio, aprendi a executar de forma independente uma grande variedade de técnicas, com exceção do HPLC que, pela sua complexidade, exigia destreza do analista. No entanto, a equipa do CQ explicou-me todos os passos fundamentais na sua execução: preparação da fase móvel, escolha da coluna, montagem da coluna, retirar bolhas de ar aprisionadas, estabilizar a pressão, filtrar amostras, etc.

2.2.2. Estágio em outras áreas do CQ

Durante o estágio, não tive oportunidade de acompanhar as atividades realizadas em áreas de CQ, como microbiologia, material de acondicionamento e controlo em processo.

2.2.3. Curta duração do estágio

A curta duração do estágio fez com que não fosse possível trabalhar em outras áreas do CQ. Além disso, senti que o estágio terminou no momento em que me comecei a sentir autónoma e independente. Considero que, com o tempo de estágio que tive, é compreensível que não tivesse contacto com as outras áreas, pois só assim consegui adquirir os conhecimentos e a prática que adquiri nas tarefas que realizei.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Estágio em Indústria Farmacêutica

A indústria farmacêutica é uma área de forte crescimento, onde os farmacêuticos podem estar presentes nos diversos departamentos, desde a produção, CQ, gestão da qualidade, investigação e desenvolvimento e assuntos regulamentares. Na Farmalabor, não estão presentes estas duas últimas áreas, mas sim na Medinfar, em Lisboa.

2.3.2. Pertence ao Grupo Medinfar

A Farmalabor pertence ao grupo Medinfar, que foi fundado em 1970. É de capital 100% Português e tem sede em Lisboa. Apresenta outras 5 unidades de negócio (7):

- FARMA – que desenvolve medicamentos de prescrição, principalmente nas áreas respiratória, dermatologia, diabetes e obesidade.
- Genéricos Portugueses – disponibiliza aos utentes uma panóplia de medicamentos genéricos de diversas áreas terapêuticas.
- Medinfar Consumer Health – focada no desenvolvimento e comercialização de MNSRM e outros produtos de saúde para a tosse/constipação (ex. Tussican[®]), proteção gástrica (ex. Proton[®] 20 mg), analgésicos (ex. Trifene[®]), vitaminas (ex. Magnoral[®]) e cuidados com a pele.
- Medinfar Serológico – esta unidade oferece um vasto leque de produtos para uso veterinário, tais como fármacos, equipamentos e vacinas.
- DVINE – Marca de cosmética focada no antienvhecimento.

O Grupo Medinfar aposta na internacionalização e globalização, estando atualmente presente em mais de 50 países. Apresenta também uma filial em Marrocos (8).

Considero que estagiar na Farmalabor foi uma grande oportunidade, pois o facto de esta unidade fabril pertencer a este grupo nacional dá visibilidade, ainda para mais este grupo detêm produtos de excelência como o Halibut Derma bebé que foi eleito escolha do consumidor 2018 e é líder em Portugal na categoria de Saúde do Consumidor e Dermatologia.

2.3.3. Estágio em Controlo de Qualidade

O CQ é responsável pela amostragem, especificações dos produtos e pela análise de conformidade com as especificações, pela documentação e procedimentos de libertação, que asseguram que todos os testes foram realizados e que nenhuma MP ou PA sejam libertados para uso ou venda sem que a qualidade seja satisfatória. Durante o estágio, observei o cumprimento de requisitos essenciais do CQ como (9) :

- Instalações adequadas, pessoal qualificado e procedimentos aprovados;
- Amostras obtidas por métodos aprovados;
- Métodos de análise validados;
- Registos manuais ou através de instrumentos de registo. Avaliação do resultado de acordo com a especificação. Quaisquer desvios são registados e investigados;
- Para que haja libertação de um lote de produto para uso é necessário que este seja certificado pela *Qualified Person*;
- Retenção de amostras para permitir a análise no futuro, se necessário.

O estágio no CQ foi uma oportunidade única de conhecer a realidade da indústria farmacêutica, nomeadamente a do laboratório.

O CQ não se restringe “às quatro paredes” do laboratório, pois atua em todas as áreas da empresa: armazém, área de produção e embalagem.

2.3.4. Desenvolvimento de capacidades

Este estágio permitiu-me desenvolver capacidades como trabalho em equipa, autonomia, organização e gestão do tempo, análise e reflexão crítica de resultados, perseverança.

A autonomia foi desenvolvida com o passar do tempo, durante a realização das análises. Assim como a perseverança, uma vez que nunca desisti de tentar melhorar para obter melhores resultados.

Devido ao grande fluxo de trabalho, era necessário fazer diferentes produtos em simultâneo, o que permitiu desenvolver a minha capacidade de organização e de gestão do tempo, pois era necessário organizar a sequência das análises de forma a rentabilizar o tempo. Para além disso, por vezes surgiam análises urgentes, por estarem a ser necessários na produção, por exemplo, pelo que era necessário dar prioridade. Assim que a análise urgente estivesse terminada, a análise pendente era retomada.

A análise crítica dos resultados, permitiu-me identificar possíveis fontes de erro e melhorar na análise seguinte, de forma a que este não ocorresse novamente.

Estas capacidades são bastante importantes a nível pessoal e distintivas no mercado de trabalho, pelo que considero que esta oportunidade é uma mais-valia para o futuro.

2.3.5. Auditorias

Durante o período de estágio, a Farmalabor recebeu duas auditorias.

Tal como referido anteriormente, a Farmalabor produz produtos farmacêuticos para terceiros, por isso disponibiliza aos seus clientes serviços de qualidade e confiança, desde a produção até ao produto final.

A primeira auditoria foi realizada por um cliente que pretendia verificar se a unidade industrial tinha as condições para produzir e analisar os seus produtos, isto é para demonstrar que a organização atende às expectativas dos clientes. A segunda foi para certificação da *International Organization for Standardization* (ISO).

Considero que ter estagiado num período em que a unidade fabril recebeu inspeções é uma mais-valia, uma vez que durante a segunda auditoria estava no laboratório e pude vivenciar a sensação de o meu trabalho estar a ser observado e avaliado. Com estas auditorias consegui perceber que a forma dos analistas trabalharem é independente da presença de auditores, o que significa que as normas são cumpridas todos os dias e em todas as análises.

2.4. Ameaças

2.4.1. Outros Profissionais

Apesar das competências técnicas e científicas dos farmacêuticos serem vantajosas para a indústria farmacêutica, considero que existem poucos farmacêuticos neste setor, pois atualmente a maioria dos colaboradores do CQ apresentam outra formação académica. Apesar de outros grupos de profissionais poderem exercer as funções de analista e de isso poder ser um entrave à entrada de farmacêuticos neste setor, considero que é de extrema

importância a presença de uma equipa multidisciplinar, de forma a completarem-se e a ser mais fácil atingir o objetivo comum.

2.4.2. Novos Mercados

Tal como referido anteriormente, a Farmalabor realiza *contract manufacturing*, que consiste no fabrico de produtos para outras empresas. No entanto, esta unidade industrial não produz medicamentos biológicos, perdendo assim capacidade competitiva face a novos mercados como a China e a Índia em que se tem verificado o crescimento da indústria biofarmacêutica, pelo que se espera que, no futuro, estes venham a ter um papel importante no fabrico por *contract manufacturing* de biofármacos (10).

3. Conclusão

O MICE oferece uma variedade de oportunidades profissionais. O estágio é essencial para melhorar e obter novas competências e experiências que nos diferenciem no mercado de trabalho.

O estágio na Farmalabor foi o meu primeiro contacto com a realidade de uma indústria farmacêutica, área que sempre me despertou interesse, mostrando-se, sem dúvida, uma experiência extremamente enriquecedora.

Com este estágio, tomei consciência da importância do departamento de CQ numa indústria farmacêutica, uma vez que este não se limita à execução de ensaios laboratoriais, pois apresenta também um papel ativo em todas as decisões relacionadas com a qualidade do produto.

4. Referências Bibliográficas

1. Grupo Medinfar - **Farmalabor**. Grupo Medinfar. [Acedido a 4 de agosto de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.medinfar.pt/farmalabor/>
2. CARVALHO, Fernando - **Capítulo IV- A Estratégia nas Organizações**. In: LISBOA, J., COELHO, A., COELHO, F., ALMEIDA, F.. Introdução à gestão de organizações. Barcelos: Vida Económica, 2004 . ISBN: 972-788-118-1. p. 181-220.
3. Organização Mundial de Saúde - **Anexo I- Boas práticas da OMS para laboratórios de controle de qualidade de produtos farmacêuticos**. Organização Mundial de Saúde [Acedido a 4 de agosto de 2018]. Disponível na Internet: https://extranet.who.int/prequal/sites/default/files/documents/TRS957_annexI_PORTUGUESE.pdf
4. U.S. Department of Health and Human Services - **Guidance for Industry: Investigating Out-of-Specification (OOS) Test Results for Pharmaceutical Production**. Food and drug administration. [Acedido a 4 de agosto de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm070287.pdf>
5. Infarmed, I.P. - **Gabinete Jurídico e contencioso**. Portaria n.º 594/2004 de 2 de Junho. [Acedido a 4 de agosto de 2018]. Disponível na Internet: http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/portaria_594-2004.pdf/d8b8cac3-3250-4d05-b44b-51c5f43b601a
6. Hassan, B. A. R. - **HPLC Uses and Importance in the Pharmaceutical Analysis and Industrial**. Pharmaceutica Analytica Acta. 3, 9 (2012).
7. Grupo Medinfar - **Grupo**. Grupo Medinfar. [Acedido a 1 de agosto de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.medinfar.pt/o-grupo/>
8. Grupo Medinfar - **Medinfar no mundo**. Grupo Medinfar. [Acedido a 1 de agosto de 2018]. Disponível na Internet: <http://www.medinfar.pt/medinfar-no-mundo/>
9. European commission - **The Rules Governing Medicinal Products in the European Union - Chapter 6: Quality Control**. EudraLex. [Acedido a 8 de agosto de 2018]. Disponível na Internet: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-4/2014-11_vol4_chapter_6.pdf
10. XIA, V. O., RADER, R. A. - **Trends in Biopharma Contract Manufacturing in China and India**. Pharmaceutical Outsourcing. [Acedido a 21 de agosto de 2018]. Disponível na Internet: <https://www.pharmoutsourcing.com/Featured-Articles/339549-Trends-in-Biopharma-Contract-Manufacturing-in-China-and-India>

C. Importância dos transportadores no controlo da exposição fetal a xenobióticos

Monografia

Professora Doutora Joana Bicker de Melo Alves Aparício

I. LISTA DE ABREVIATURAS

ABC – *ATP-binding cassette*

ADME – Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção

AINEs – Anti-inflamatórios não esteróides

AUC – Área sob a curva

β -GCH – β -gonadotrofina coriônica humana

BCRP – *Breast cancer resistance protein*

BHE – Barreira Hematoencefálica

CNT – Transportador de Nucleosídeos Concentrativos (do inglês: *concentrative nucleoside transporter*)

ENT – Transportador de Nucleosídeos Equilibrativos (do inglês: *equilibrative nucleoside transporter*)

gp-P – Glicoproteína-P

ISRS – Inibidores Seletivos de Recaptação de Serotonina

MATE – Transportador de extrusão de múltiplos fármacos e toxinas (do inglês: *multidrug and toxin extrusion transporter*)

MDR1 – *Multidrug resistance protein 1*

mRNA – RNA mensageiro

MRP – Proteínas associadas à resistência a múltiplos fármacos (do inglês: *multidrug resistance-associated protein*)

OAT – Transportador de Aniões Orgânicos (do inglês: *organic anion transporter*)

OATP – Polipeptídeos Transportadores de Aniões Orgânicos (do inglês: *organic anion-transporting polypeptides*)

OCT – Transportador de Catiões Orgânicos (do inglês: *organic cation transporter*)

OCTN - Transportadores Orgânicos de Carnitina (do inglês: *organic carnitine transporter*)

PXR – Recetor de Pregnano X (do inglês: *pregnane X receptor*)

SLC – Transportadores de Solute (do inglês: *solute carrier*)

SNC – Sistema Nervoso Central

SNP – Polimorfismo de Nucleótido Único (do inglês: *single nucleotide polymorphisms*)

II. LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Alterações farmacocinéticas que ocorrem na grávida (3,9,11)	37
Tabela 2 - Localização, substratos, inibidores e polimorfismos dos transportadores ABC e SLC da placenta.....	48
Tabela 3 - Características das principais linhas celulares de trofoblasto humano (12,58,65,66,69,71).....	53
Tabela 4 - Vantagens e desvantagens dos modelos experimentais utilizados para avaliação da transferência placentária	57

III. LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação da mulher grávida e possíveis patologias.....	36
Figura 2 – Circulação feto-placentária (A) e vilosidade coriônica no início e final da gravidez (B) . Adaptado de (16).....	38
Figura 3 -Transportadores ABC e SLC dos sinciotrofoblastos. Adaptado de (18).....	40
Figura 4 – Representação do processo de dupla perfusão da placenta. Adaptado de (60).55	

IV. RESUMO

A utilização de fármacos durante a gravidez é controversa, uma vez que estes são essenciais para tratamento agudo ou crónico das gestantes ou de doenças fetais mas, por outro lado, poderão levar ao surgimento de anomalias congénitas ou efeitos adversos na mulher grávida.

A placenta humana controla o desenvolvimento fetal e funciona como a interface entre a mãe e o feto, estando envolvida no transporte de nutrientes, oxigénio e xenobióticos da mãe para o feto e dos resíduos fetais para a circulação materna. Na placenta existem duas superfamílias de transportadores, os transportadores *ATP-binding cassette* (ABC) e os transportadores de soluto (SLC), alguns dos quais se encontram estrategicamente posicionados para restringir o acesso de xenobióticos ao feto, mantendo-os na circulação materna. Dessa forma, o estudo das interações dos fármacos com estes transportadores assume importância clínica.

Porém, a participação de mulheres grávidas em ensaios clínicos levanta questões éticas, pelo que este grupo raramente é incluído, com exceção se o medicamento for destinado especificamente para as mesmas. O facto de as mulheres grávidas não participarem nestes estudos origina falta de informação sobre a utilização de fármacos na gravidez, por isso no momento da introdução do medicamento no mercado apenas existe informação da fase pré-clínica em animais.

Assim, o objetivo desta monografia é abordar a localização, função, polimorfismos e relevância dos transportadores placentários no controlo da exposição fetal a xenobióticos. Como estes transportadores controlam a concentração de xenobióticos que passa a placenta, torna-se imperativo estudá-los, de forma a identificar os seus substratos e inibidores, e minimizar o risco a que o feto está sujeito.

Serão ainda referidos os modelos experimentais utilizados até ao momento para avaliar a passagem dos fármacos através da placenta.

Palavras-chave: *ATP-binding cassette*; efluxo; feto; gravidez; influxo; placenta; transportadores de soluto; xenobióticos.

V. ABSTRACT

The use of drugs during pregnancy is controversial, since these are essential for the acute or chronic treatment of pregnant woman or fetal diseases, but, on the other hand, may lead to the appearance of congenital anomalies or adverse effects on the pregnant woman.

The human placenta controls fetal development and works as an interface between the mother and the child, being involved in the transport of nutrients, oxygen and xenobiotics from the mother to the fetus and of fetal residues to the maternal circulation. At the placenta there are two large families of transporters, the ATP-binding cassette transporter (ABC) and the solute carrier (SLC), some of which are strategically positioned to limit the access of xenobiotics to the fetus by keeping them in the maternal circulation. Therefore, the study of the interaction between drugs and these transporters has clinical importance.

However, since the participation of pregnant woman in clinical trials raises ethical questions, this group is rarely included, except if the drug is specifically destined for them. Since pregnant woman do not participate in these trials, this leads to a lack of information about drug use during pregnancy and when a drug enters the market there is only data from the pre-clinical phase with animals.

Thus, the purpose of this monograph is to discuss the localization, function, polymorphisms, and relevance of the placental transporters on the control of the fetal exposure to xenobiotics. As these transporters control the concentration of xenobiotics that cross the placenta, it becomes imperative to study them in order to identify their substrates and inhibitors, and minimize the risk to which the fetus is subjected.

The currently used experimental models to evaluate the passage of drugs across the placenta will also be mentioned.

Key-words: *ATP-binding cassette; efflux; fetus; influx; placenta; pregnancy; solute carrier; xenobiotics.*

I. Introdução

I.1. A gravidez e fases de desenvolvimento fetal

O uso de fármacos durante a gravidez é comum, de forma a preservar a saúde materno-fetal e controlar doenças crónicas (ex.: asma, epilepsia, depressão, hipertensão arterial) assim como situações resultantes da gravidez (ex.: náuseas, vômitos, pré-eclâmpsia, diabetes gestacional) (Figura 1) (1–3).

Um estudo epidemiológico efetuado de 1976 a 2008 demonstrou que em 2008 mais de 93% das mulheres grávidas tomaram pelo menos um medicamento não sujeito ou sujeito a receita médica e mais de 50% tomaram 4 ou mais medicamentos em qualquer período da gravidez (4). Dos grupos de medicamentos mais prescritos faziam parte os analgésicos, antibióticos, antieméticos, anti-histamínicos, diuréticos e hormonas (progesterona e levotiroxina) (3–5).



A primeira evidência de toxicidade fetal ocorreu com a tragédia da talidomida, prescrita no final dos anos 50 e 60 como antiemético. Contudo, este fármaco originava malformações fetais, graças ao efeito teratogénico do S-enantiómero (5,6). Efetivamente, a utilização de fármacos durante as diversas fases da gravidez é preocupante, devido à possibilidade de estes atravessarem a barreira placentária e causarem toxicidade fetal.

Figura 1 – Representação da mulher grávida e possíveis patologias.
Adaptado de (7)

A gravidez pode ser dividida em 3 trimestres, sendo o 1º trimestre de gravidez o período mais crítico, durante o qual muitos dos embriões morrem por efeito do stress, exposição a fármacos e deficiências nutricionais (8). No entanto, verifica-se que durante este período a taxa de prescrição a mulheres grávidas é de, aproximadamente, 40% e que cerca de 3% estão expostas a fármacos suscetíveis de causar teratogenicidade fetal (1,2).

Outro modo de classificar as etapas da gravidez é de acordo com o desenvolvimento fetal ao longo das 38 semanas após concepção. Este método mostra-se útil para avaliar os potenciais riscos associados ao uso de fármacos:

- Fase pré-embrionária (1^a-2^a semana) – Ocorre desde a fecundação até à implantação. A exposição a agentes teratogénicos pode não ter efeito sobre o embrião ou pelo contrário, levar à sua morte (resposta “tudo ou nada”). Desta forma, o desenvolvimento de malformações fetais após a administração de fármacos neste período é improvável, exceto se o tempo de semi-vida do fármaco for elevado e prolongar a exposição no estado embrionário (ex.: isotretinoína).
- Fase embrionária (3^a-8^a semana) – A organogénese ocorre predominantemente durante este período. Nesta fase, o risco de ocorrer malformações devido à utilização de fármacos é maior, pelo que estes devem ser evitados.
- Fase fetal (9^a-38^a semana) – O feto continua a crescer e a desenvolver-se. Encontra-se suscetível a alguns xenobióticos com efeito no sistema nervoso central (SNC) como o etanol, e no sistema reprodutor (ex.: danazol), pois o seu desenvolvimento apenas se completa nesta fase (9).

Porém, além da idade gestacional, os efeitos nocivos fetais dependem também de outros fatores como a dose, frequência de administração, via de administração e de eliminação (4,10).

Adicionalmente, é importante ter em consideração que ao longo da gravidez ocorrem mudanças fisiológicas que podem alterar a absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) dos fármacos (3). Algumas destas alterações estão descritas na tabela seguinte (Tabela I):

Tabela I - Alterações farmacocinéticas que ocorrem na grávida (3,9,11)

Fase	Alterações
Absorção	Redução da velocidade do esvaziamento gástrico, náuseas, vômitos e aumento do pH gástrico.
Distribuição	Diminuição da concentração de albumina sérica materna. Aumento do volume sanguíneo materno. O pH do sangue arterial materno aumenta ligeiramente alterando a curva de dissociação de oxi-hemoglobina e promovendo a dissociação do oxigénio para facilitar a transferência transplacentária de oxigénio ao feto. Esta alteração de pH vai influenciar também a ligação fármaco-proteína.
Metabolismo	Os níveis elevados de estrogénios podem alterar a expressão e funcionalidade das enzimas metabolizadoras da fase I ou II.
Excreção	Aumento do fluxo sanguíneo e da filtração glomerular origina maior depuração dos fármacos.

Todas estas alterações no processo de ADME levam à necessidade de ponderar a utilização de fármacos e ajustar a dose a administrar.

1.2. A placenta: estrutura, funções e mecanismos de transporte

A placenta é um órgão transitório e multifuncional, fundamental para o crescimento do embrião e desenvolvimento fetal (12). Apresenta uma forma discóide com 20-25 cm de diâmetro, 2-4 cm de espessura e 400-600 g de peso (13). Estima-se que possua entre 10 a 40 unidades vasculares funcionais, denominadas cotilédones, que estão em contacto direto com o sangue materno. Dentro de cada cotilédone, as vilosidades coriônicas formam uma barreira que separa a circulação materna da circulação fetal (12,14).

Dessa barreira faz parte uma camada polarizada e semipermeável de sinciotrofoblastos multinucleados que cobre uma outra camada descontínua de citotrofoblastos, lâmina basal, tecido conjuntivo (estroma) e células endoteliais dos capilares fetais (Figura 2) (3,14). Esta interface faz a ligação entre o feto em desenvolvimento e a mãe, permitindo a troca de nutrientes, oxigénio, fatores de crescimento, citocinas, quimiocinas, prostaglandinas, hormonas, resíduos da circulação fetal e xenobióticos (1,3,12,15). A membrana apical apresenta microvilosidades e está em contacto com o sangue materno, enquanto a membrana basolateral contacta com a circulação fetal e não apresenta microvilosidades. Para além de estruturalmente distintas, estas duas membranas diferem também nos transportadores, enzimas e recetores hormonais (12).

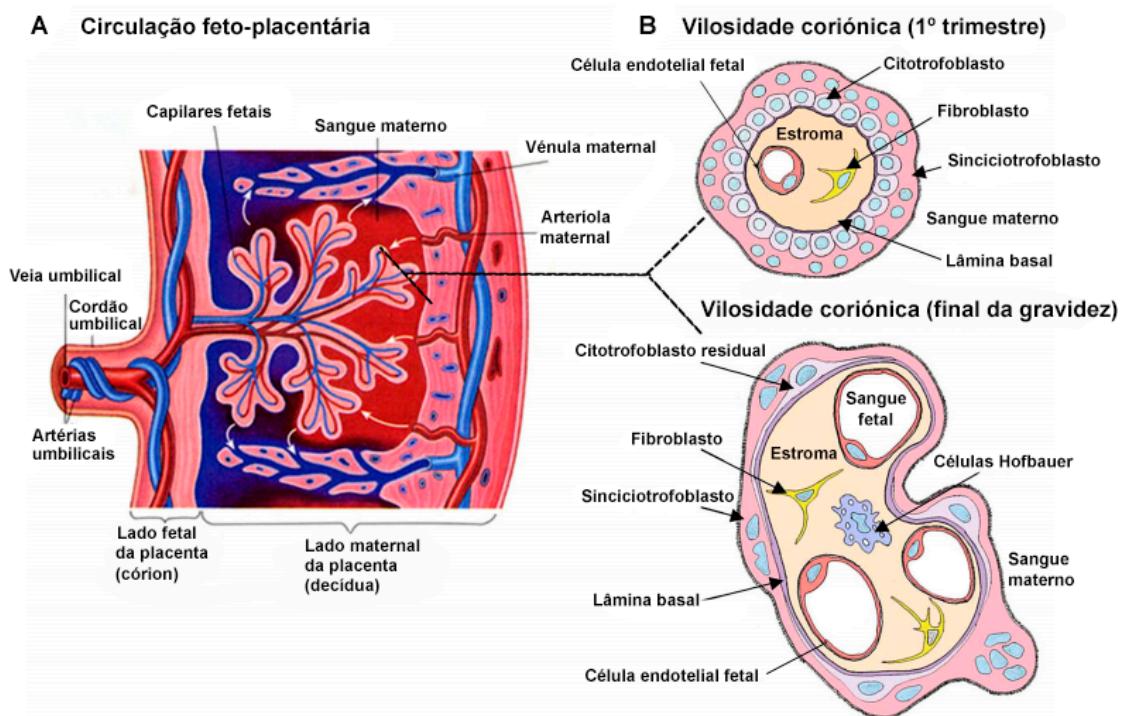


Figura 2 – Circulação feto-placentária (A) e vilosidade coriônica no início e final da gravidez (B). Adaptado de (16)

Contudo, a placenta sofre alterações morfológicas e funcionais ao longo da gestação, de forma a proporcionar as condições apropriadas ao desenvolvimento fetal (3). Estas traduzem-se na diminuição da proporção de citotrofoblastos, cuja camada perde espessura e é menos contínua no final da gravidez; no aumento da proporção de sinciotrofoblastos (5 m² à 28^a semana de gestação para 12 m² no final da gestação); na diminuição da distância entre a circulação materna e a fetal (50-100 µm no segundo mês para 4-5 µm no fim da gravidez) e na modificação dos níveis de expressão e distribuição dos transportadores placentários (3,17). Adicionalmente, a placenta apresenta uma grande heterogeneidade entre espécies, o que coloca algumas dúvidas sobre a utilização de modelos animais (não primatas) para avaliar a exposição fetal (18), como será abordado mais adiante.

Os xenobióticos podem atravessar a placenta por diversos mecanismos: difusão simples/passiva, difusão facilitada, transporte ativo e endocitose, sendo a difusão passiva o mais comum. A difusão depende das propriedades físico-químicas das moléculas (peso molecular, grau de ionização, lipofilia), ligação às proteínas plasmáticas, características da placenta (espessura e fluxo sanguíneo), gradiente de concentração nos compartimentos materno e fetal e do pH do sangue materno e fetal (10,12). Enquanto a difusão simples é realizada por iões e moléculas de baixo peso molecular que se difundem através da bicamada de fosfolípidos, na difusão facilitada intervêm proteínas transportadoras. Ambas dependem do gradiente de concentração, pelo que os substratos entram ou saem da célula de acordo com o mesmo. Em contraste, o transporte ativo é unidirecional e ocorre contra o gradiente de concentração, através do consumo energia (14).

É importante referir que a expressão e a função dos transportadores variam durante a gestação e dependem de alterações fisiológicas, patológicas (ex.: diabetes gestacional, cancro, pré-eclampsia) e de uma diversidade de fatores, tais como fatores de transcrição, hormonas esteróides e alterações genéticas (8). Além disso, a sua localização influencia a transferência de xenobióticos, que pode ser realizada em ambas as direções, para o lado fetal ou de volta para a corrente sanguínea materna (14).

A camada de sinciotrofoblastos contém transportadores no lado apical e basolateral que controlam o transporte transplacentário da maioria das substâncias endógenas e xenobióticos (fármacos, toxinas e metabolitos) (1,8,15). Dessa forma, os transportadores placentários regulam o grau de exposição fetal e, conseqüentemente, a teratogenicidade fetal (2). Estes transportadores pertencem a duas superfamílias: transportadores *ATP-binding cassette* (ABC) e transportadores de soluto (SLC) (Figura 3):

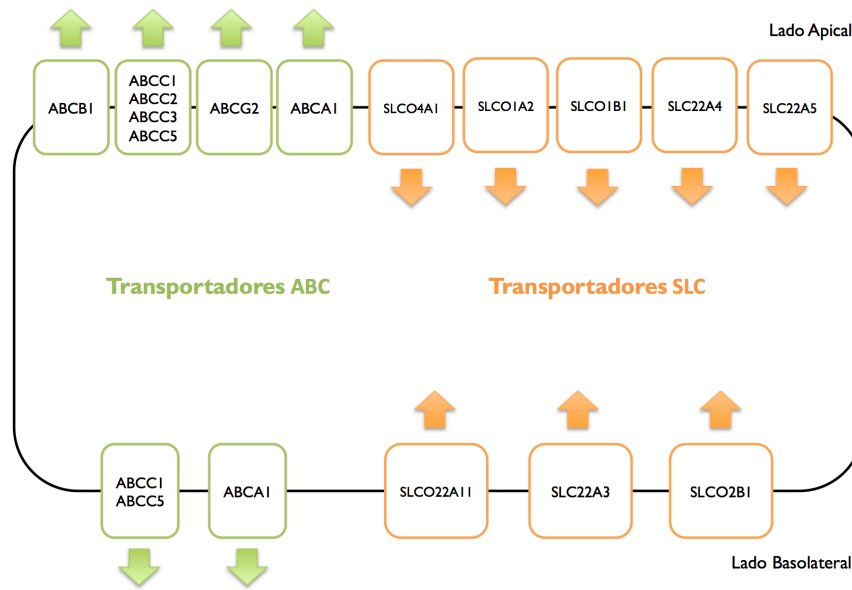


Figura 3 –Transportadores ABC e SLC dos sinciotrofoblastos. Adaptado de (18)

2. Transportadores da Placenta

2.1. Transportadores de efluxo: *ATP-binding cassette* (ABC)

A superfamília ABC é constituída por 48 membros divididos em 7 subfamílias (ABCA a ABCG) que reconhecem diversos substratos (8,18,19).

Estes transportadores são proteínas integrais da membrana e possuem pelo menos um domínio hidrofílico (no citoplasma) e um domínio hidrofóbico (na membrana). Estão presentes em diversos organelos intracelulares (ex.: retículo endoplasmático, mitocôndrias) e controlam a transferência de substratos do citoplasma para o meio extracelular (19). A energia proveniente da hidrólise do ATP é utilizada para transportar ativamente os substratos da placenta para a circulação materna (1,8,20). Alguns dos compostos endógenos transportados por estes transportadores são iões inorgânicos, glucose, aminoácidos, iões metálicos, colesterol e fosfolípidos (18).

Na placenta, os transportadores ABC são expressos na superfície apical do sinciotrofoblasto e realizam o transporte de substratos endógenos e exógenos. Conferem proteção ao feto contra os efeitos nocivos de fármacos, drogas de abuso, toxinas e outros xenobióticos (1,19).

Os principais membros desta superfamília expressos na placenta são a glicoproteína P (gp-P) e a *Breast cancer resistance protein* (BCRP) (15,21).

2.1.1. ABCB: glicoproteína-P (ABCB1)

O primeiro transportador ABC a ser conhecido foi a gp-P ou *multidrug resistance protein 1* (MDR1), codificada pelo gene *ABCB1*. Este transportador de efluxo transporta principalmente compostos catiónicos e lipofílicos para fora das células, no entanto, também pode transportar substratos aniónicos e neutros. Vários fármacos usados no 1º trimestre da gravidez são transportados pela gp-P da placenta. É responsável pelo transporte ativo de xenobióticos e produtos endógenos para a circulação materna, limitando desta forma a exposição fetal (1,2,18).

A localização da gp-P está de acordo com a sua função de proteção do feto em desenvolvimento a xenobióticos, sendo expressa na membrana apical dos sinciotrofoblastos da placenta, nas células endoteliais do feto e nos citotrofoblastos (1,18). Como a necessidade de proteger o feto diminui ao longo da gravidez, é expectável que a expressão da gp-P na placenta seja superior no seu início e, conforme esta avance haja uma diminuição na sua expressão (21). Efetivamente, os níveis de RNA mensageiro (mRNA) *ABCB1* e de gp-P na placenta diminuem gradualmente com a progressão da gestação (1,21,22), sendo superiores na 24^a-35^a semanas em comparação com o final da gestação (23).

Uma das principais causas de variabilidade na expressão e atividade da gp-P na placenta é a existência de polimorfismos genéticos. Até ao dia de hoje, foram identificados mais de 50 polimorfismos de nucleótido único (SNPs) no gene *ABCB1*, tendo maior relevância na placenta os SNPs C1236T, C3435T e G2677T/A (21), como indicado na Tabela 2. Porém, o seu efeito na expressão e atividade da gp-P ainda não está totalmente esclarecido, pois embora a maioria dos estudos relate uma diminuição na expressão proteica de gp-P devido a polimorfismos (24), alguns sugerem um aumento (22). Os dados contraditórios podem dever-se a diversos fatores, como a rápida degradação do mRNA da gp-P nos tecidos da placenta após o parto; tamanho pequeno da amostra; utilização de placenta de termo com baixa expressão da gp-P; contaminação da placenta com tecidos e sangue maternos e a influência da medicação na expressão (21).

Por exemplo, o transporte do antiretroviral saquinavir (substrato de gp-P) foi investigado por perfusão dupla em placenta de termo de modo a avaliar a influência dos polimorfismos C3435T e G2677A/T. Os autores concluíram que não houve efeito do genótipo C3435T ou G2677A/T no transporte do mesmo (22). Noutro estudo, *Hemauer et al.* (2010) utilizou vesículas preparadas a partir da membrana de placentas de termo para determinar a relação entre os polimorfismos e a expressão/atividade da gp-P. Concluiu que a atividade da gp-P aumentava mais de 40% em indivíduos homocigotas C1236T e C3435T com a variante alélica TT (1236TT e 3435TT) em comparação com homocigotas com a

variante alélica CC. O aumento na atividade foi observado apesar da diminuição da expressão proteica de gp-P em I236TT e 3435TT (25).

Além de polimorfismos, a função da gp-P pode ser modulada por inibidores, ativadores e indutores. O seu uso em combinação com um substrato pode originar interações medicamentosas mediadas por gp-P que alteram a função de barreira placentária e, conseqüentemente, a exposição fetal a este substrato. Se o substrato for teratogênico, as alterações no transporte podem aumentar o risco de ocorrerem anomalias congênitas fetais (2). Como foi referido de início, a gp-P transporta uma grande variedade de substratos. Seguidamente serão apresentados alguns estudos que refletem a influência da gp-P na exposição fetal dos seus substratos.

Os primeiros estudos surgiram na época de 90, através da utilização de murganhos *knockout* (Mdr1a/b(-/-)), heterozigotas (Mdr1a/b(+/-)) e homozigotas (Mdr1a/b(+/+)). Estes permitiram avaliar o papel protetor da gp-P na placenta, mediante exposição a um análogo do pesticida teratogênico avermectina (L-652.280) que habitualmente causa fenda palatina. Em fetos com genótipo Mdr1a/b(-/-) observou-se 100% de suscetibilidade a fenda palatina, enquanto que em Mdr1a/b(+/-) houve menos sensibilidade e em Mdr1a/b(+/+) ocorreu insensibilidade ao agente teratogênico. Dessa forma, a gp-P placentária mostrou-se eficaz na prevenção da fenda na palatina (26). Outro estudo mostrou que os substratos da gp-P (digoxina, saquinavir e paclitaxel) se acumulavam mais em fetos Mdr1a/1b(-/-) do que em fetos *wild-type* (27). O substrato paclitaxel é inclusivamente utilizado em mulheres no 2º e 3º trimestre com cancro, pois crê-se que a gp-P placentária, devido ao seu mecanismo de efluxo, reduz a transferência deste fármaco e possibilita o seu uso clínico (28).

Recentemente, Liao et al. (2017) realizaram estudos em murganhos *knockout* para determinar a importância da gp-P na determinação da distribuição fetal da norbuprenorfina (metabolito ativo da buprenorfina). Concluíram que a área sob a curva (AUC) fetal da norbuprenorfina é aproximadamente 64% superior à AUC plasmática materna em murganhos *wild-type*, pelo que a exposição fetal à norbuprenorfina é considerável. A AUC plasmática fetal em murganhos *knockout* foi superior à observada em murganhos *wild-type*, mas o rácio de AUC do plasma fetal e materno permaneceu inalterado em murganhos *knockout*, indicando que o aumento de exposição fetal se deveu ao aumento dos níveis plasmáticos maternos (29).

Outro estudo realizado em murganhos constatou que a transferência placentária de digoxina pode ser influenciada pela administração de sertralina (inibidor seletivo da recaptação de serotonina) após 4 horas de exposição. Este antidepressivo aumentou o efluxo realizado pela gp-P da placenta, dificultando a passagem de digoxina para o feto mas,

por outro lado, levou à sua acumulação no cérebro materno e fetal. Crê-se que poderão estar envolvidos diferentes mecanismos de ativação e inibição na barreira placentária e barreira hematoencefálica (BHE), respetivamente, porém são necessários mais estudos (30).

Por último, importa referir que a expressão da gp-P, à semelhança de outros transportadores ABC, pode ser regulada pelo recetor nuclear de pregnano X (PXR) (1). *Gahir e Piquette-Miller (2017)* analisaram a influência da expressão de gp-P em murganhos com diferentes genótipos fetais de PXR (PXR $-/-$, $+/+$ e PXR $+/-$) na acumulação fetal do antiretroviral lopinavir. A expressão placentária de mRNA *Abcb1a* foi 2-3 vezes superior em fetos PXR $+/+$ do que em fetos PXR $-/-$, bem como a concentração materna de lopinavir. Os autores concluíram que estes resultados se relacionavam com a expressão placentária de gp-P, visto que o aumento da transcrição de *Abcb1a* na placenta diminuiu a acumulação fetal de lopinavir (31).

2.1.2. ABCC: proteínas associadas à resistência a múltiplos fármacos (MRPs)

Na subfamília com o gene ABCC existem várias proteínas associadas à resistência a múltiplos fármacos (MRPs) que efetuam o efluxo de substratos endógenos, bem como de fármacos conjugados (glucuronido, sulfato, glutaciona) e não conjugados (18,19). A localização e alguns substratos dos transportadores MRPI-5 encontram-se descritos na Tabela 2. Foi encontrado mRNA de outras MRPs como MRP6, MRP7 e MRP8 na placenta, mas a sua função e localização ainda não foram esclarecidas (21).

À semelhança de outros transportadores, crê-se que os níveis de MRPs durante a gestação não se mantenham constantes. Por exemplo, observou-se que a expressão de MRPI quadruplicou do 1º para o 3º trimestre em amostras de placenta, enquanto numa linha celular de coriocarcinoma humano (BeWo) a sua expressão aumentou 20 vezes após polarização. Este transportador foi identificado como o mais expresso de todos os MRPs, tanto em placenta como na linha celular BeWo (32). Da mesma forma, os níveis de MRP2 parecem aumentar ao longo da gravidez (33), o que estará associado a uma maior excreção de bilirrubina conjugada (18). Em contraste, os níveis de MRP5 parecem diminuir a partir do 2º trimestre (34).

A localização predominante do transportador MRPI na membrana basolateral do sinciotrofoblasto evidencia o seu papel importante no transporte de nutrientes (ex.: ácido fólico) e compostos endógenos para o compartimento fetal. Porém, esta também poderá revelar-se prejudicial, como demonstrado por *Straka et al. (2016)* em células BeWo, onde o

MRPI efetuou o efluxo de mercúrio conjugado com glutatona em direção à circulação fetal (35).

Além de importantes funções fisiológicas, como o transporte de ácido fólico através da placenta, o transportador MRP2 permite o efluxo de fármacos anti-tumorais, como a doxorrubicina, cisplatina e vinblastina (36).

Por sua vez, o MRP5 também tem como substratos fármacos anti-tumorais e anti-retrovirais, conferindo resistência aos análogos de nucleótidos (37). Este transportador funciona a nível fisiológico como bomba de efluxo de nucleótidos cíclicos, particularmente de monofosfato cíclico de guanosina (cGMP), que são essenciais na diferenciação do citotrofoblasto (1).

2.1.3. ABCG: Breast cancer resistance protein (BCRP; ABCG2)

Os genes da família ABCG originam transportadores envolvidos no transporte de colesterol, com exceção da BCRP (19). A BCRP foi descoberta há 20 anos e exerce um efeito protetor ao aumentar a eliminação de xenobióticos. Tem como particularidade o facto de ser um meio transportador, pois apenas apresenta um *nucleotide binding domain* terminal seguido de um *membrane spanning domains* no terminal C, pelo que é necessário homodimerização para se tornar uma proteína funcional (21,22). Este transportador encontra-se expresso em níveis elevados na placenta (18,20,21), mais especificamente na membrana apical dos sinciciotrofoblastos, citotrofoblastos e células endoteliais dos vasos sanguíneos do feto (19).

As proteínas gp-P e BCRP apresentam funções e localizações idênticas (15). Todavia, apesar de terem muitos substratos em comum, também possuem substratos quimicamente específicos (18,19,22). Por exemplo, a sobreexpressão de BCRP está associada à resistência a agentes anticancerígenos como mitoxantrona, topotecano e flavopiridol, mas não a fármacos como o paclitaxel, cisplatina ou alcalóides da vinca (15,20).

A expressão de BCRP, contrariamente à de gp-P, aumenta com o progredir da gestação (38). A expressão e atividade da BCRP também podem ser influenciadas por múltiplos fatores, nomeadamente variações hormonais, níveis de oxigénio, processos inflamatórios, polimorfismos genéticos e exposição a alguns fármacos. Durante a gravidez há alterações nas concentrações de hormonas e pensa-se que estas possam regular a expressão de BCRP (19,21). Os dados da influência dos estrogénios na regulação de BCRP na placenta mostram-se contraditórios. Há estudos *in vitro* (células BeWo) que demonstraram que a expressão de mRNA ABCG2 e de proteína BCRP na placenta aumenta com progesterona e diminui com o estrogénio (39), contudo a expressão de mRNA ABCG2 em células de

trofoblasto primárias humanas não sofreu alterações quando expostas ao estrogénio e à progesterona (40). Por este motivo, há necessidade de estudos adicionais.

Como referido, outro fator que influencia a regulação da expressão de BCRP na placenta é o oxigénio. Por exemplo, em situação de hipoxia há diminuição da expressão de BCRP na placenta do 1º trimestre, mas não há efeito na expressão de mRNA ABCG2 no 3º trimestre (41).

Os processos inflamatórios podem alterar a expressão dos transportadores de efluxo e ter impacto no transporte e na exposição fetal. No caso da inflamação em placentas de parto prematuro há aumento de expressão de BCRP em comparação a placentas sem inflamação (42). Porém, em estudos realizados em roedores como modelo de infeção e inflamação (induzida por lipopolissacarídeo), não houve alteração na expressão de mRNA de *Abcg2* na placenta (15,19). Podemos concluir que a regulação da expressão desta proteína é um processo complexo que depende não só do agente inflamatório envolvido como também da fase da gravidez (19).

A expressão deste transportador pode também ser alterada pela presença de xenobióticos. A expressão aumentou com exposição a glucocorticoides durante o 1º trimestre (estudo em placenta humana)(43) e pela presença de inseticida organofosforado clorpirifos (estudo em células JEG 3) (44).

Os polimorfismos genéticos também afetam a expressão e função da BCRP. Em SNPs do gene ABCG2 ocorre normalmente diminuição da expressão de mRNA e da funcionalidade, ou até mesmo ausência. Como a biodisponibilidade e os resultados da terapêutica com fármacos substratos de BCRP dependem da função do transportador, a influência dos seus polimorfismos tem sido investigada no tratamento do cancro (20).

Para terminar, Rubinchik-Stern *et al.* (2015) estudaram o efeito dos antiepilépticos na expressão de transportadores placentários, utilizando células BeWo. Concluíram que o ácido valpróico aumentou a expressão de BCRP e o seu de mRNA até 2,7 vezes, bem como a atividade desta proteína, enquanto a fenitoína aumentou a expressão de BCRP em 2,9 vezes. Noutro estudo recente, constatou-se que os opióides prescritos para terapêutica de manutenção em grávidas (metadona, buprenorfina e seu metabolito) induziam a expressão e atividade de BCRP em células BeWo, JEG-3 e trofoblastos humanos primários (45).

2.2. Transportadores de soluto (SLC): OATs, OCTs, OCTNs, OATPs

Da superfamília de transportadores SLC fazem parte mais de 300 membros distribuídos por mais de 50 famílias e pelos diversos tecidos. Muitos destes transportadores apresentam um substrato específico e reconhecem e transportam compostos endógenos

como açúcares, aminoácidos ou nucleótidos. Porém, outros não apresentam especificidade de substrato, pelo que se revelam importantes na excreção renal e biliar (8,18).

Os transportadores SLC são independentes de ATP e funcionam como co-transportadores, porque utilizam gradientes de concentração de outras substâncias, normalmente moléculas hidrofílicas ou carregadas (catiões e aniões), para transportar os seus substratos. O transporte realizado por SLC é frequentemente de influxo (do espaço extracelular para células), no entanto, alguns transportadores SLC podem realizar efluxo. Alguns dos fármacos transportados pelos SLC são anti-inflamatórios não esteróides (AINEs), antibióticos, diuréticos e anti-tumorais (8,18).

Os transportadores SLC que se encontram na placenta são os transportadores de catiões orgânicos (OCT), transportadores de aniões orgânicos (OAT), transportadores orgânicos de carnitina (OCTN), polipeptídeos transportadores de aniões orgânicos (OATPs), os transportadores de nucleosídeos, nomeadamente os transportadores de nucleosídeos concentrativos (CNT) e os transportadores de nucleosídeos equilibrativos (ENT), e o transportador de extrusão de múltiplos fármacos e toxinas (MATE) (8).

O transportador OCT3 encontra-se em elevada expressão na membrana basolateral do sinciciotrofoblasto humano, enquanto os transportadores OCTN1 e 2 (subfamília SLC22A) se encontram no lado apical (materno) (46). O OCT3 é um transportador Na^+/Cl^- -independente que funciona como um transportador de monoaminas extraneuronal devido à elevada afinidade por monoaminas como serotonina, dopamina, norepinefrina e histamina. Por esse motivo, este transportador interage com fármacos antidepressivos como desipramina, imipramina e também anfetaminas (12). Por sua vez, o transportador OCTN2 transporta L-carnitina de forma Na^+ -dependente da circulação materna para a fetal, suprimindo as necessidades metabólicas da placenta (47). No entanto, é também responsável pelo transporte de antidepressivos, anfetaminas e beta-lactâmicos (12).

Os transportadores OATP mais encontrados na placenta humana são o OATP1A2, OATP1B1, OATP2B1, OATP3A1 e OATP4A1 (18). O OATP2B1 está envolvido na absorção basolateral de conjugados de esteróides sulfatados, enquanto o OATP4A1 é expresso na membrana apical e é responsável pela absorção placentária de hormonas da tiróide e prostaglandinas fundamentais ao desenvolvimento fetal (18,48). Adicionalmente, estes transportadores estão envolvidos no transporte de vários fármacos indicados na Tabela 2, embora sejam necessários mais estudos para esclarecer a sua regulação. À semelhança dos transportadores ABC, a sua expressão também varia do 1º para o 3º trimestre de gravidez. Enquanto os transportadores OATP4A1 (e OCT3) são mais expressos durante o 1º trimestre, verifica-se o inverso para OATP2B1 (49).

Em relação aos transportadores OAT, o OAT4 é o que apresenta maior expressão (12,50). Para além de desempenhar a função de transportador de xenobióticos, está envolvido no transporte de substâncias precursoras de estrogénios (3,51).

Num estudo recente, foi caracterizado o mecanismo de permeação através da placenta do entecavir, um antiviral de primeira linha no tratamento da hepatite B crónica. Usando células transfectadas com os respetivos transportadores, concluiu-se que o entecavir é substrato de CNT2, CNT3, OCT3 e BCRP. A inibição da captação do fármaco em células trofoblásticas humanas primárias comprovou o envolvimento dos transportadores ENT1/2, CNT2/3, OCT3, OCTN2, MRP2 e gp-P na transferência do fármaco na placenta humana. Assim, pensa-se que na captação da circulação materna para células trofoblásticas estejam envolvidos os transportadores CNT2/3, ENT1/2 e OCTN2, enquanto no efluxo das células trofoblásticas para a circulação fetal seja o OCT3, e das células trofoblásticas para a circulação materna seja a BCRP, MRP2 e gp-P (52).

Tabela 2 – Localização, substratos, inibidores e polimorfismos dos transportadores ABC e SLC da placenta

Transportador	Localização	Substratos		Inibidores	Polimorfismos	Referências
		Endógenos	Farmacológicos			
ABC ABC1/gp-P	MA do SCTB; membrana de CTB voltada para SCTB; endotélio dos FBV	17-hidroxiprogesterona, aldosterona; citocinas anti-inflamatórias (IL-4); citocinas pró-inflamatórias (IL-1b, IL-2, IL-6, IFN γ , GM-CSF, TNF- α); quimiocinas (CCL2); glucocorticóides endógenos (cortisol); estradiol-17b-estradiol; estrona, flavonóides; PAF, pregnenolona, esfingomielina e análogos de fosfolípidos de cadeia curta;	Amoxicilina; abacavir; amprenavir; atorvastatina; bromocriptina; claritromicina; carbamazepina; cimetidina; ciprofloxacina; diclofenac; digoxina; doxorubicina; daunorubicina; indinavir; cetococonazol; itraconazol; ivermectina; L-dopa; levofloxacina; loratadina, losartan; morfina; nifedipina; nelfinavir; fenobarbital; prednisolona; prazosina; ranitidina; rifampicina; ritonavir; saquinavir; tetraciclina; nitrofurantóina; paclitaxel; sulpirida; olomoucina II; lopinavir; quinidina; fexofenadina; loperamida; terfenadina	Ciclosporina; verapamil; sinvastatina; lovastatina; atorvastatina; quinidina; clorpromazina	G2677A/T; G2677T/A; C3435T; C1236T; T-129C	(19,46,50,53,54)
MRP1	MB do SCTB; MA do SCTB; endotélio dos FBV	Glucuronídeos de bilirrubina; estradiol-17b-glucuronido; estrona 3-sulfato; DHEAS; conjugados de glucuronido e sulfato de sais biliares; ácido fólico; leucotrieno C4, testosterona;	Cloroquina; doxorubicina; daunorubicina; fluoroquinolonas; macrólidos; metotrexato; atazanavir; nelfinavir; vincristina; vinblastina; etoposido; saquinavir; cisplatina; mitoxantrona; topotecano	Verapamil; probenecida; ciclosporina	G2677A/T; G2677T/A; C3435T	(18,19,21,50,55,56)
MRP2	MA do SCTB	7 b-glucuronosil estradiol; DHEAS, estrona 3-sulfato; leucotrieno C4; bilirrubina - glucuronídeos; CCK-8; conjuntos de glucuronido e sulfato de sais biliares; ácido fólico; bilirrubina	Metotrexato; pravastatina; doxorubicina; Adefovir; AZT; lopinavir; etoposido; paclitaxel; vincristina; cisplatina; arsenite; rifampicina; glibenclâmida; indometacina; azitromicina; irinotecano	Probenecida; ciclosporina; montelucaste	G1249A; C3972A; C-24T	(18,19,21,31,33,50,57)
MRP3	MA do SCTB; endotélio dos FBV; MB do SCTB;	17 b-glucuronosil estradiol; leucotrieno C4; DHEAS; Conjuntos de glucuronido de sais biliares	Metotrexato, acetaminofeno glucuronido, fexofenadina	Probenecida; benzbromarona		(19,21,50)
MRP5	MB do SCTB; MA do SCTB; endotélio dos FBV	cAMP; cGMP; ácido fólico; DHEAS	Adefovir, metotrexato	Probenecida; sildenafil		(19,21,50,55)
ABCG2/BCRP	MA do SCTB; MA do CTB; endotélio dos FBV	estradiol-17b-glucuronido; desidroepiandrosterona; estrona-3-sulfato; ácido fólico; porfirinas e metabólitos; esfingolípidos; prostaglandinas;	Adefovir; beta-lactâmicos; cimetidina; diclofenac; doxorubicina; fluoroquinolonas; gliburida, nifedipina; nitrofurantóina; oxandazol; prazosina; rosuvastatina e outras estatinas; AZT; aflotoxina A1; sulpirida; olomoucina II; mitoxantrona; metotrexato; topotecano; flavopiridol; pantoprazol; imatinib	Elacridar; funitremorgina C; glucocorticóides; digoxina; nicardipina; novobiocina	SNPs: G344A; C421A	(12,19,21,46,50,57,58)

Tabela 2 – Localização, substratos, inibidores e polimorfismos dos transportadores ABC e SLC da placenta fetal

SLC	MB do SCTB; CTB basal	DHEAS	Tetraciclina; zidovudina, salicilatos; cetoprofeno	metotrexato;	Taurocolato; probenecid; corticosteróides; bromossulfaleína	(3,18)
OAT [SLC22A11]	4					
OCT3 [SLC22A3]	MB do SCTB		Sulpirida; antidepressivos; entecavir	anfetaminas;	Corticosteróides; estradiol	(52)
OCTN1 [SLC22A4]	MA do SCTB	Lactato; ácido fólico	Verapamil; quinidina;		D-carnitina; nicotina; cimetidina	(18,50)
OCTN2 [SLC22A5]	MA do SCTB	Lactato; ácido fólico; L-carnitina;	Verapamil; quinidina; beta-lactâmicos		Nicotina; corticosteróides	(18,50)
OATP1A2 [SLCO1A2]	MA do SCTB	Hormonas da tiróide; ácidos biliares e hormonas esteróides conjugadas			Antirretrovirais; dexametasona; eritromicina; verapamil	(18,50)
OATP1B1 [SLCO1B1]	MA do SCTB	Ácidos biliares			Glicirrizina; ciclosporina A	(18,50)
OATP2B1 [SLCO2B1]	MB do SCTB; CTB basal	DHEAS; glutamato				(18,50,59)
OATP4A1 [SLCO4A1]	MA do SCTB	Hormonas da tiróide			Bromossulfaleína	(18,59)

AZT, zidovudina; cAMP, adenosina monofosfato cíclico; CCL-2, quimiocina (C-C motif) ligando 2; CCK, colecistoquinina; cGMP, guanosina monofosfato cíclico; CTB, citotrofoblasto; DHEAS, sulfato desidroepiandrosterona; EV, extraviloso; FBV, vasos sanguíneos fetais; GM-CSF, fator estimulante de colónias de granulócitos e macrófagos; IL, interleucina; INF, interferão; MA, membrana apical; MB, membrana basolateral; MIF, fator inibidor da migração de macrófagos; PAF, fator de ativação plaquetária; SCTB, sincitiotrofoblasto; TNF, fator de necrose tumoral; V, viloso

3. Avaliação experimental da passagem dos compostos através da placenta

Durante a gravidez, a maioria das mulheres necessita de tomar medicamentos. A decisão de realizar determinado tratamento é baseada na relação risco-benefício, que é determinada pela concentração de medicamento que atravessa a placenta (60).

A maioria dos medicamentos não dispõe de muita informação sobre segurança fetal no momento de obter a autorização de introdução no mercado, pelo que é necessário estimar a exposição ao fármaco para saber se este pode ser administrado com segurança na gravidez (61,62).

Cada vez mais há necessidade de realizar estudos sobre os transportadores placentários quanto à sua expressão no tecido, significado fisiopatológico e relevância farmacológica (50). Como os ensaios clínicos em mulheres grávidas levantam problemas éticos, são utilizados modelos experimentais com capacidade de replicar a funcionalidade das células de sinciotrofoblasto (12). Apesar de os estudos *in vitro* proporcionarem informações muito importantes como a especificidade de substrato dos transportadores, os estudos *in vivo* ou *ex vivo* são fundamentais para estabelecer o seu significado funcional e clínico (50).

Na avaliação da teratogenicidade e fetotoxicidade são utilizados modelos animais que apresentam como vantagem o facto de serem um sistema fisiológico completo. No entanto, as diferenças morfológicas e no tempo de gestação entre espécies fazem com que não seja possível extrapolar estudos da localização do transportador ou de alterações da expressão tempo-dependentes (12,18). Por estas razões, os modelos de origem humana permitem investigar melhor os mecanismos de transporte placentário, metabolismo e toxicidade (12).

De seguida, serão apresentados diferentes modelos de avaliação experimental da passagem de compostos através da placenta.

3.1. Modelos *in vitro*: culturas humanas primárias de trofoblasto, linhas celulares de trofoblasto humano (BeWo, JAR, JEG)

As culturas humanas primárias de citotrofoblastos são isoladas a partir de placenta humana. Além de não proliferativas e multinucleadas, estas células diferenciam-se em sinciotrofoblastos (sincialização) espontaneamente, quando se colocam em cultura. Se forem cultivadas em membranas semipermeáveis, não formam uma monocamada, mas sim, agregados com grandes espaços intercelulares que não permitem estudar o transporte de xenobióticos (1,63). Adicionalmente, a obtenção de uma população celular reprodutível é

difícil, há elevado risco de contaminação e são inviáveis a muitas passagens. Estas culturas celulares podem ser utilizadas em estudos de metabolismo e captação, apresentando especial interesse em estudos com vírus (1,12). Exemplo disso é o estudo recente da infecção do vírus zika em culturas humanas primárias de trofoblastos. Este vírus tem capacidade de ,por transferência vertical (da mãe para o feto), causar microcefalia e malformações cerebrais fetais (64). Estas culturas, devido à sua curta duração, não podem ser utilizadas em estudos de manipulação genética (65).

As linhas celulares de trofoblasto humano (BeWo, JEG-3 e JAR) foram obtidas de células de coriocarcinoma humano. Estas linhas celulares apresentam fácil manuseamento em relação às culturas primárias e são modelos adequados para estudar a fisiologia, função da barreira placentária, farmacologia e mecanismos de transporte (8,65). Contudo, apesar das semelhanças, estas linhas celulares apresentam diferenças a nível da atividade secretora, proliferativa, grau de diferenciação e expressão dos transportadores, indicadas na Tabela 3 (12).

Das linhas celulares apresentadas, a linha celular BeWo é a mais utilizada como modelo de células trofoblásticas porque apresenta características mais próximas a estas células (65) e uma capacidade confirmada de formar monocamadas contínuas e polarizadas que é um pré-requisito essencial para estudar o transporte (66). Esta é constituída por citotrofoblastos indiferenciados com alguns sinciotrofoblastos. Apresenta propriedades morfológicas e bioquímicas semelhantes ao trofoblasto e permite estudar o seu processo de diferenciação, o metabolismo da placenta e o transporte de nutrientes e fármacos através da mesma (12).

As células BeWo formam rapidamente (4 – 5 dias) uma monocamada de células polarizadas com microvilosidades na superfície apical num suporte permeável. A capacidade destas células formarem uma monocamada depende da capacidade de formar junções de oclusão, que por sua vez depende da densidade celular, extensão da ligação, tempo de exposição, condições ambientais e do suporte (diâmetro, tamanho de poro, matriz). A medição da resistência elétrica transepitelial e da transferência de marcadores paracelulares (inulina, sacarose, fluoresceína, amarelo de Lucifer) permite avaliar a formação da monocamada celular (63).

A diferenciação em sinciotrofoblastos não ocorre espontaneamente, pelo que é necessário induzi-la (67). Por esta razão, as células BeWo podem ser utilizadas em diferentes graus de maturação de trofoblastos (citotrofoblastos de gestação precoce ou sinciotrofoblastos de gestação tardia). No entanto, a utilização de indutores aumenta a permeabilidade conferindo uma desvantagem na realização estudos de transporte (63).

Nas células BeWo os transportadores de efluxo ABC são expressos com um padrão semelhante ao dos sinciotrofoblastos isolados da placenta humana. O facto de a expressão dos transportadores variar entre culturas é uma das principais desvantagens. A expressão de mRNA, de MRP1, MRP2, MRP3 e MRP5 varia consoante o estado de diferenciação (68). Os transportadores OCTN2 estão presentes, enquanto o OCT3 é pouco expresso (52) e ainda não se encontra descrita a expressão de OAT.

Os modelos *in vitro* de culturas celulares têm como desvantagem o facto de serem limitados à investigação de mecanismos de transferência (transporte ativo ou difusão passiva), bem como, a falta de integridade anatómica e de fluxo sanguíneo (60). Por este motivo, antes de utilizar uma linha celular é necessário verificar a expressão dos transportadores, uma vez que estes não são expressos exatamente com o mesmo perfil da placenta, e é necessário escolher a linha mais adequada para o estudo em causa (58,69). Os resultados obtidos em estudos com linhas celulares de trofoblastos devem ser analisados com precaução, especialmente quando se pretende transpor os resultados para *in vivo* (65).

Recentemente, Clabault *et al.* (2018) estudaram os efeitos dos inibidores seletivos de recaptação de serotonina (ISRS) utilizando células BeWo e células trofoblásticas humanas primárias. Este estudo concluiu que os ISRS afetam estruturalmente a sincicialização do trofoblasto de forma concentração-dependente e que alguns ISRS podem comprometer a saúde placentária. Nenhum dos ISRS afetou a fusão celular em células BeWo e a secreção de β -gonadotrofina coriónica humana (β -hCG) nos trofoblastos primários. A sertralina e a venlafaxina aumentaram a fusão dos trofoblastos vilosos primários e inibiram a secreção β -hCG pelas células BeWo. Por sua vez, a norfluoxetina aumentou a β -hCG e diminuiu os níveis de expressão génica da proteína *gap junction alfa 1* em células BeWo. Esta proteína é responsável pela formação de junções de oclusão que são importantes para que ocorra sincicialização (70).

Tabela 3 - Características das principais linhas celulares de trofoblasto humano (12,58,65,66,69,71)

	BeWo	JEG-3	JAR	Células primárias da placenta
Origem	Células de coriocarcinoma	Células de coriocarcinoma derivadas de BeWo	Células do coriocarcinoma derivadas de BeWo	Placenta humana de termo
Diferenciação	Não espontânea; Diferenciação bioquímica e morfológica	Não espontânea; Diferenciação bioquímica	Diferenciação morfológica Menos diferenciadas que JEG 3	Espontânea
Características	Menos diferenciadas que JEG 3; Capacidade de secretar hormonas (β -GCH, progesterona, lactogénio da placenta) e de produzir citocinas (IFN, IL10, IL6 e IL8 e IL4) Forma MP; ABCG2; ABCC1/2/5;	Menor taxa de proliferação e maior grau de diferenciação; Características biológicas e bioquímicas comuns com os SCTB; Produzem hormonas e expressam várias enzimas; Capacidade de formar MP é controversa; ABCG2; ABCC1/2/4	Mais idênticas aos CTB não diferenciados da placenta humana; Forma monocamadas transitórias; Capacidade de polarizar é controversa; ABCBI, ABCC1/2	CTB indiferenciados representam as fases iniciais da gestação; Difíceis de obter; Não sobrevivem muito tempo em cultura; Não há formação de monocamada; Progesterona, β -GCH, hormonas esteroides; Contaminação por células endoteliais; ABCBI;ABCC1/3/5
Uso	Estudo do transporte de fármacos através da placenta; Diferenciação dos trofoblastos; Estudo do metabolismo da placenta;	Expressão génica; Estudos de função placentária; Estudo do transporte de fármacos através da placenta	Apoptose; Estudos de função placentária	Regulação da expressão dos transportadores (expressão génica); Estimulação fisiológica; Secreção de hormonas; Estudos com vírus

ABC, *ATP-binding cassette*; CTB, citotrofoblasto; IL, interleucina; β -GCH, β -gonadotrofina coriônica humana; IFN, interferão; MP, monocamada polarizada; SCTB, sinciotrofoblasto

3.2. Modelos animais

Como referido na secção 1.2, a placenta humana é um órgão complexo e há diferenças significativas entre espécies no fluxo de sanguíneo, estrutura e função, tornando-se difícil extrapolar para os humanos os dados obtidos em animais. Apesar da placenta nos roedores ser hemocorial tal como a humana, nos roedores a gestação é mais curta, pelo que os estados de desenvolvimento fetal e placentário não são comparáveis com os humanos (18,69). Alguns transportadores presentes em humanos não existem em roedores ou podem ter localizações, substratos e regulação diferentes (18). Por exemplo, não foram encontrados ortólogos de OAT4 em roedores (72) e o MRPI apresenta diferenças na especificidade do substrato entre primatas e outras espécies (55). Porém, os estudos em animais são uma mais-valia porque permitem estudar o transporte placentário e a toxicidade em diferentes fases da gestação, bem como a acumulação nos tecidos fetais (60). No

entanto, devido à falha destes modelos animais, não foi possível prever a toxicidade fetal da talidomida (73).

Nos estudos em animais podem ser colocados cateteres nas veias e artérias, de forma a realizar amostragem em vários locais durante o estudo ou podem ser removidos os fetos e a placenta, de forma a analisar determinado compartimento (74).

3.3. Perfusão placentária humana (ex-vivo)

Devido aos problemas éticos associados à realização de estudos em mulheres grávidas, são necessários modelos experimentais alternativos para estimar a exposição fetal.

A dupla perfusão (mãe-feto e feto-mãe) de um único lóbulo placentário *ex vivo* (Figura 4) é o único modelo experimental que permite estudar a transferência placentária humana de substâncias em tecido placentário organizado capaz de prever a exposição fetal (8,60). Este modelo permite estudar a distribuição na placenta e não apresenta problemas éticos. A recolha de tecido é um processo não invasivo e inofensivo para a mãe e recém-nascido (12,60). Este método pode sofrer alterações no método de canulação, procedimento de isolamento, perfusão, oxigenação e nos parâmetros controlados para garantir a viabilidade do tecido (ex.: pH, produção de lactato, consumo de glicose, secreção hCG, perda de volume fetal) e, por isso, uma das suas desvantagens é o facto de não haver critérios padronizados (59,75). Gases como O₂, CO₂ e N₂ são utilizados para manter os níveis fisiológicos e é utilizado um banho a 37°C para manter a viabilidade do tecido (3). No anexo I encontra-se descrito o modo de proceder na realização deste método, segundo Hutson *et al.* (2011).

Este modelo é útil no estudo de substratos endógenos e exógenos (aminoácidos, hormonas, eletrólitos, vírus, fármacos) e permite a investigação simultânea de muitas propriedades que podem interferir na transferência placentária, como propriedades físico-químicas (tamanho, pKa e lipofilia) e fatores farmacocinéticos (transporte ativo, ligação placentária e metabolismo). Adicionalmente, também possibilita o estudo de interações fármaco-fármaco nos transportadores placentários (60).

Como referido anteriormente, a placenta é um órgão que sofre alterações morfológicas durante a gestação, alterando também os mecanismos de transporte. Consequentemente, este modelo apresenta a desvantagem de ser apenas realizado em placenta de 3º trimestre (tecido de pré-termo e termo) e não poder ser usado para determinar a transferência no 1º trimestre, por não refletir a organização, função e metabolismo da placenta imatura (8,12,71). Além disso, o facto de existir variação interindividual levanta questões relativamente ao número de placentas que são necessárias

para validar o método (12). Também não considera fatores farmacocinéticos como a ligação às proteínas plasmáticas, eliminação e distribuição entre os compartimentos materno-fetal. Apesar de se poder adicionar proteínas ao meio de perfusão, é difícil mimetizar as condições fisiológicas, uma vez que *in vivo* existem numerosas proteínas e fatores endógenos (60).

Outras desvantagens deste método são que o tempo durante o qual se pode fazer a análise é crítico, porque este utiliza tecido que vai perdendo viabilidade (66); o seu custo relativamente elevado e o facto de apenas um lóbulo de cada placenta ser adequado para a perfusão, o que não permite que seja feito um ensaio de controlo em paralelo (76).

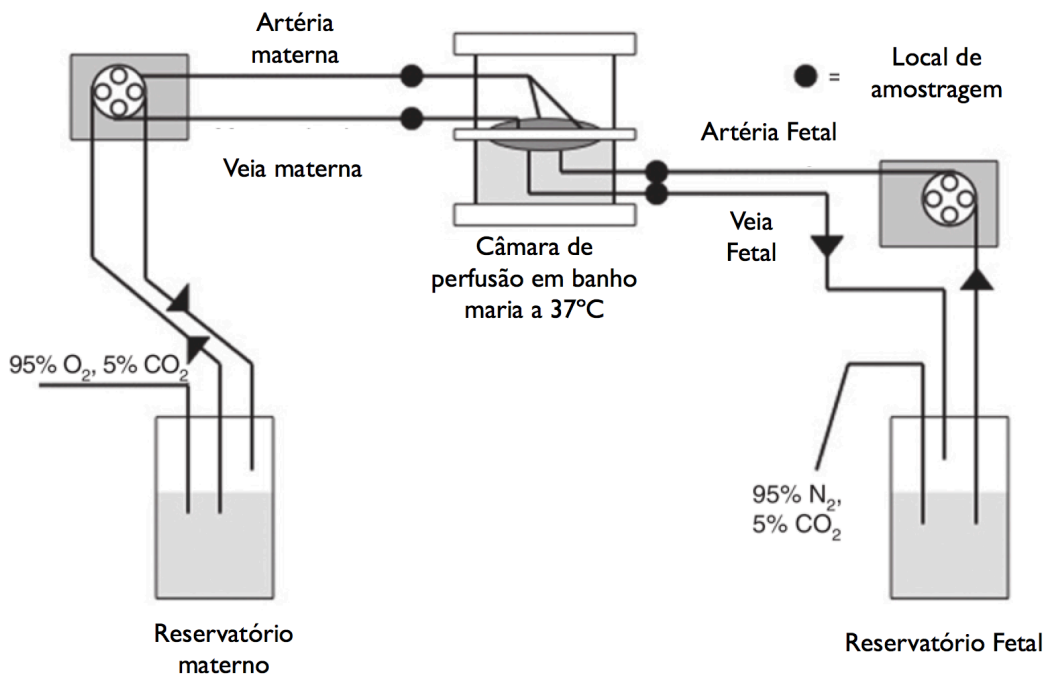


Figura 4 – Representação do processo de dupla perfusão da placenta. Adaptado de (60)

3.4. Avaliação das concentrações plasmáticas no sangue materno e cordão umbilical

Estes estudos baseiam-se na medição das concentrações do fármaco no sangue do cordão umbilical (sangue arterial, venoso ou mistura) e no sangue venoso materno no momento do parto ou após a toma crónica durante a gravidez (estado estacionário)(60). Nestes estudos não podem ser utilizados novos fármacos ou substâncias tóxicas por questões éticas (74). Permitem quantificar as concentrações de xenobióticos no estado estacionário e estimar a exposição fetal *in vivo* (60,77).

Na avaliação da transferência placentária de fármacos devem ser realizadas medições na veia que recebe o sangue da placenta (veia umbilical). Através da diferença de

concentrações entre a veia umbilical e a artéria é possível retirar conclusões sobre a distribuição de fármacos e o metabolismo fetal, uma vez que na veia umbilical as concentrações de fármaco são mais elevadas que no sangue do cordão umbilical misturado ou arterial. No entanto, não é possível, a partir do sangue do cordão umbilical, determinar se há acumulação (60).

A medição é feita apenas a um tempo, numa população reduzida, e está sujeita a variações como a contaminação da amostra, o tempo e local de recolha da amostra, diferenças interindividuais e duração da exposição. As concentrações séricas de sangue venoso não refletem as concentrações da placenta e podem depender dos tecidos irrigados pela veia (60).

A amostragem do sangue do cordão umbilical no momento do parto é de fácil acessibilidade e eticamente aceitável. Apesar de existirem técnicas recolha de amostras de sangue da veia e artéria do cordão umbilical enquanto o feto ainda está no útero, estas técnicas apenas são utilizadas quando clinicamente indicadas (74). Assim, a principal utilidade deste modelo é fornecer evidências *in vivo* do transporte transplacentário em determinada fase gestacional. Consoante a indicação terapêutica, é esperado que o composto tenha um transporte transplacentário alto (ex. antibiótico para tratar corioamnionite) ou baixo (ex. tratar patologia da gestante) (78).

Estes estudos apresentam como desvantagem o facto de não fornecerem informação sobre a cinética de transferência nem permitirem avaliar o papel dos transportadores placentários (8).

A Tabela 4 resume os modelos apresentados anteriormente.

Tabela 4 – Vantagens e desvantagens dos modelos experimentais utilizados para avaliação da transferência placentária

Modelo experimental	Vantagens	Desvantagens	Referências
Culturas celulares primárias humanas de citotrofoblasto	Estudos com vírus.	Não permite estudar o transporte de xenobióticos; Representa apenas as fases iniciais da gestação; Dificuldade em obter uma linha celular reprodutível.	(12)
Linhas celulares de trofoblasto humano	Estudo do mecanismo de transferência, fisiologia do trofoblasto e função de barreira da placenta;	Expressão de transportadores pode variar entre culturas celulares; Não reflete a expressão e regulação fisiológica; Não possuem integridade anatômica; Linhas celulares derivadas de carcinoma.	(8,60)
Modelos animais	Permite estudar a transferência, acumulação nos tecidos e a toxicidade em diferentes fases da gestação.	Diferenças inter-espécies; Difícil extrapolar para humanos; Limitada ao estado estacionário.	(8,18)
Dupla perfusão da Placenta	Semelhanças com a estrutura e integridade das células <i>in vivo</i> ; Permite estudar a distribuição de substratos endógenos e exógenos; Não apresenta problemas éticos.	Critérios não padronizados; Não pode ser usada para determinar a transferência no 1º trimestre; Não considera alguns fatores farmacocinéticos.	(18,60)
Concentrações plasmáticas no sangue materno e cordão umbilical	<i>In vivo</i> em humanos no momento do parto; Permite estimar a exposição fetal.	Não podem ser utilizados novos fármacos ou substâncias tóxicas por questões éticas; Medição a um tempo; Amostra reduzida; Não fornecem informação sobre a cinética de transferência; Não permite avaliar o papel dos transportadores placentários.	(60)

4. Considerações Finais

A mulher grávida pode contactar com fármacos de forma inadvertida, quando toma medicação e fica grávida inesperadamente; durante o tratamento de doenças crónicas; ou durante o tratamento de doenças agudas que surjam na gravidez (61).

Consequentemente, são várias as patologias que podem ocorrer na gravidez e que necessitam da utilização de fármacos. Por exemplo, a esquizofrenia, depressão e outros distúrbios psiquiátricos que necessitam do uso de fármacos antipsicóticos ou antidepressivos e podem não apresentar dados clínicos suficientes que demonstrem segurança na gravidez (46); processos inflamatórios (vaginoses, infeções do trato urinário, entre outras) que podem resultar em complicações na gestação e no parto; e o cancro, que apesar de ser relativamente raro durante a gravidez, se tornou uma preocupação, uma vez que a sua incidência aumentou devido ao facto de a maternidade ser cada vez mais tardia (28). Apesar de a quimioterapia ser considerada incompatível com o desenvolvimento fetal normal, estudos recentes indicam que o tratamento das mães com um citostático no 2º e 3º trimestre não influencia o desenvolvimento fetal (53).

Nesse sentido, há cada vez mais necessidade de realizar estudos sobre os transportadores placentários, de forma a compreender a sua expressão, função, regulação, significado fisiopatológico e relevância farmacológica. Isto é fundamental para garantir que os medicamentos prescritos durante a gravidez são seguros e eficazes, uma vez que os transportadores controlam o transporte e concentração de fármaco que chega ao feto (3).

Com a administração concomitante de fármacos podem ocorrer interações medicamentosas na barreira placentária se estes forem substratos ou inibidores dos transportadores. A atividade do transportador poderá ser alterada ou poderão ocorrer interações entre os fármacos que originem alterações da concentração de fármaco no compartimento fetal e perda de eficácia terapêutica ou toxicidade. Por este motivo, há necessidade de mais estudos sobre a possibilidade de interações medicamentosas mediadas por transportadores placentários e sobre os mecanismos envolvidos (21).

Os transportadores ABC e SLC, para além de transportarem xenobióticos, transportam também nutrientes. Os xenobióticos podem competir com os substratos endógenos dos transportadores placentários e interferir na entrega de nutrientes ao feto, pelo que é necessário realizar estudos que ponderem a interação entre os dois e a sua influência no transporte entre feto e mãe e no crescimento e desenvolvimento fetal (18).

A localização e a expressão exata dos transportadores ao longo da gravidez é controversa e até ao momento não há dados que relacionem a expressão do transportador

e o sexo fetal. No entanto, sabe-se que os transportadores placentários são regulados por hormonas e daí haver necessidade de esclarecer a eventual relação (18).

Por sua vez, os modelos placentários utilizados no estudo do transporte de xenobióticos precisam de melhor caracterização a nível celular (expressão de enzimas, transportadores, grau de passagem, fenótipo, diferenciação) e de vários fatores externos (condições de cultura, características do suporte permeável, condições para realizar o estudo). O futuro passará pela utilização de modelos como a *placenta-on-a-chip*, um sistema micro-fisiológico baseado em células humanas que permite simular e quantificar o transporte de fármacos através da placenta. Neste *microchip*, as células trofoblásticas e células endoteliais são cultivadas em oposição em uma membrana semipermeável, sob condições de fluxo (73). Utilizando a glibenclamida como fármaco-modelo, Blundell *et al.* (2018) demonstrou que este sistema micro-fisiológico mimetiza a barreira placentária humana e prevê o transporte ativo de fármacos mediado por transportadores de efluxo.

A realização de mais estudos e o desenvolvimento de melhores modelos experimentais permitirá obter mais informações relativas à passagem de fármacos através da placenta, de forma a fornecer à grávida não só a medicação mais eficaz para o tratamento da patologia ou da sintomatologia que apresenta, mas também a que possui menores riscos para o seu feto.

5. Referências Bibliográficas

1. JOSHI, ANAND A., VAIDYA, S. S., ST-PIERRE, MARIE V., MIKHEEV, ANDREI M., DESINO, KELLY E., NYANDEGE, ABNER N., AUDUS, KENNETH L., UNADKAT, JASHVANT D., GERK, JASHVANT D. - **Placental ABC Transporters: Biological Impact and Pharmaceutical Significance.** *Pharmaceutical Research.* 33, 12 (2017) 2847–2878.
2. DAUD, A. N. A., BOERGMAN, J. E. H., BAKKER, M. K., WANG, H., KERSJENS-FREDERIKSE, W. S., WALLE, H. E. G., GROEN, H., BOS, J. H. J., HAK, E., WIFFERT - **P- Glycoprotein-Mediated Drug Interactions in Pregnancy and Changes in the Risk of Congenital Anomalies: A Case-Reference Study.** *Drug Safety.* 38, 7 (2015) 651–659.
3. AL-ENAZY, S., ALI, S., ALBEKAIRI, N., EL-TAWIL, M. & RYTTING, E. - **Placental control of drug delivery.** *Advanced Drug Delivery Reviews,* 2016 (2016) 1-10.
4. MITCHELL, A. A., GILBOA, M., WERLER, M. M., KELLEY, K. E., LOIK, C., HERNÁNDEZ-DIAS, S. - **Medication use during pregnancy, with particular focus on prescription drugs: 1976-2008.** *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* 205, (2011) 51.e1-51.e8.
5. SEZGIN-BAYINDIR, Z., ELCIN, A. E., PARMAKSIZ, M., ELCIN, Y. M., YUKSEL, N. - **Investigations on Clonazepam Loaded Polymeric Micelle-like Nanoparticles for Safe Drug Administration During Pregnancy.** *Journal of Microencapsulation.* (2018) 1–43.
6. VARGESSON, N. - **Thalidomide-induced teratogenesis: History and mechanisms.** *Birth Defects Res. Part C - Embryo Today Rev.* 105, 2, (2015) 140– 156.
7. Anatomy Medical Pictures - **Body organ diagrama woman.** Anatomy Medical Pictures. [Acedido a 20 de abril de 2018]. Disponível na Internet: <http://anatomymedicallook.com/body-organ-diagram-woman/body-organ-diagram-woman-human-body-organs-female-during-pregnancy-anatomy-body-system/>
8. STAUD, F., CECKOVA, M. - **Regulation of drug transporter expression and function in the placenta.** *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 11, 4, (2015) 533–555.
9. WALKER, R., WHITTLESE A, C. - **Clinical pharmacy and therapeutics.** 5a Ed. London. Elsevier Ltd, 2012. ISBN 978-0-7020-4293-5.
10. EVAIN-BRION, D., BERVEILLER, P., GIL, S. - **Le passage transplacentaire des médicaments.** *Société Française Pharmacol. Thérapeutique* 69, 1, (2014) 3–11.
11. COSTANTINE, M. M. - **Physiologic and pharmacokinetic changes in**

- pregnancy.** *Front. Pharmacol.* 5, (2014) 1–5.
12. PROUILLAC, C., LECOEUR, S. - **The role of the placenta in fetus exposure to xenobiotics: importance of membrane transporters, human models for transfer studies.** *Drug Metab. Dispos.* 38, 10 (2010) 1623–1635.
13. DECHERNEY, A. H., NATHAN, L. - **Obstetrícia e Ginecologia: Diagnóstico e Tratamento.** 9a Ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill. Current, 2005. ISBN: 85-86804-34-7.
14. GUNDACKER, C., NEESEN J., STRAKA, E., ELLINGER, I., DOLZING, H., HENGSTSCHLÄGER, M. - **Genetics of the human placenta: implications for toxicokinetics.** *Archives of Toxicology.* 90,11 (2016) 2563-2581.
15. PETROVIC, V., KOJOVIC, D., CRESSMAN, A., PIQUETTE-MILLER, M. - **Maternal bacterial infections impact expression of drug transporters in human placenta.** *Int. Immunopharmacol.* 26, (2015) 349–356.
16. MURTHI, P., ABUMAREE, M., KALIONIS, B. - **Analysis of homeobox gene action may reveal novel angiogenic pathways in normal placental vasculature and in clinical pregnancy disorders associated with abnormal placental angiogenesis.** *Front. Pharmacol.* 5, (2014) 1–12.
17. BENIRSCHKE, K., PETER, K., BAERGEN, R. - **Pathology of the human placenta.** 5a Ed. Springer US, 2006. ISBN 978-0-387-26742-5.
18. WALKER, N., FILIS, P., SOFFIENTINI, U., BELLINGHAM, M., O'SHAUGHNESSY, P. J., FOWLER, P.A. - **Placental transporter localization and expression in the human: The importance of species, sex, and gestational age difference.** *Biol. Reprod.* 0, 0 (2017) 1-10.
19. BLOISE, E., ORTIGA-CARVALHO, T. M., REIS, F. M., LYE, S. J., GIBB, W. - **ATP-binding cassette transporters in reproduction: a new frontier.** *Hum. Reprod. Update* 22, 2 (2016) 164–18.
20. HASANABADY, M. H., KALALINIA, F. - **ABCG2 inhibition as a therapeutic approach for overcoming multidrug resistance in cancer.** *J. Biosci.* 41, (2016) 313–324.
21. NI, Z., MAO, Q. - **ATP-Binding Cassette Efflux Transporters in Human Placenta.** *Curr. Pharm. Biotechnol.* 12, 4 (2011) 674–685.
22. HUTSON, J. R., KOREN, G., MATTHEWS, S. G. - **Placental P-glycoprotein and breast cancer resistance protein: Influence of polymorphisms on fetal drug exposure and physiology.** *Placenta.* 31, (2010) 351–357.
23. SUN, M., KINGDOM, J., BACZYK, D., LYE, S. J., MATTHEWS, S. G., GIBB, W.

- Expression of the Multidrug Resistance P-Glycoprotein, (ABCB1 glycoprotein) in the Human Placenta Decreases with Advancing Gestation.** *Placenta* 27, (2006) 602–609.
24. HITZL, M., SCHAEFFELER, E., HOCHER, B., SLOWINSKI, T., HALLE, H., EICHELBAUM, M., KAUFMANN, P., FRITZ, P., FROMM, M. F., SCHWAB, M. - **Variable expression of P-glycoprotein in the human placenta and its association with mutations of the multidrug.** *Pharmacogenetics*. 14, (2004) 921-925.
25. HEMAUER, S. J., NANOVSKEYA, T. N., ABDEL-RAHMAN, S. Z., PATRIKKEVA, S. L., HANKINS, G.D.V., AHMED, M. S. - **Modulation of human placental P-glycoprotein expression and activity by MDRI gene polymorphisms.** *Biochem Pharmacol*. 79, 6 (2010) 921–925.
26. LANKAS, G. R., WISE, L. D., CARTWRIGHT, M. E., PIPPERT, T., UMBENHAUER, D. R. - **Placental P-glycoprotein deficiency enhances susceptibility to chemically induced birth defects in mice.** *Reprod. Toxicol*. 12, 4 (1998) 457–463.
27. SMIT, J. W., HUISMAN, M. T., VAN TELLINGEN, O., WILTSHIRE, H. R., SCHINKEL, A. H. - **Absence or pharmacological blocking of placental P-glycoprotein profoundly increases fetal drug exposure.** *J. Clin. Invest*. 104, 10 (1999) 1441–1447.
28. LEE, N. Y., LEE, H. E., KANG, Y. S. - **Identification of P-glycoprotein and transport mechanism of paclitaxel in syncytiotrophoblast cells.** *Biomol. Ther*. 22, 1 (2014) 68–72.
29. LIAO, M. Z., GAO, C., SHIREMAN, L. M., PHILLIPS, B., RISLER, L. J., NERADUGOMMA, N.K., CHOUDHARI, P., PRASAD, B., SHEN, D., MAO, Q. - **P-gp/ABCB1 exerts differential impacts on brain and fetal exposure to norbuprenorphine.** *Pharmacol. Res*. 119, (2017) 61–71.
30. BHUIYAN, M., PETROPOULOS, S., GIBB, W., MATTHEWS, S. G. - **Sertraline alters multidrug resistance phosphoglycoprotein activity in the mouse placenta and fetal blood-brain barrier.** *Reprod. Sci*. 19, 4 (2012) 407–415.
31. GAHIR, S. S., PIQUETTE-MILLER, M. - **The role of PXR genotype and transporter expression in the placental transport of lopinavir in mice.** *Pharmaceutics* 9, 49 (2017) 1–10.
32. PASCOLO, L., FERNETTII, C., PIRULLI, D., CROVELLA, S., AMOROSO, A., TIRIBELLIA, C. - **Effects of maturation on RNA transcription and protein expression of four MRP genes in human placenta and in BeWo cells.**

Biochem. Biophys. Res. Commun. 303, (2003) 259–265.

33. SCHWABEDISSEN, H. E. M. Z., JEDLITSCHKY, G., GRATZ, M., HAENISCH, S., LINNEMANN, K., FUSCH, C., CASCORBI, I., KROEMER, H. K. - **Variable expression of MRP2 (ABCC2) in human placenta: Influence of gestational age and cellular differentiation.** *Drug Metab. Dispos.* 33, 7 (2005) 896–904.
34. SCHWABEDISSEN, H. E. U. M. ZU, GRUBE, M., HEYDRICH, B., LINNEMANN, K., FUSCH, C., KROEMER, H. K., JEDLITSCHKY, G. - **Expression, Localization, and Function of MRP5 (ABCC5), a Transporter for Cyclic Nucleotides, in Human Placenta and Cultured Human Trophoblasts.** *Am. J. Pathol.* 166, 1 (2005) 39–48.
35. STRAKA, E., ELLINGER, I., BALTHASAR, C., SCHEINAST, M., SCHATZ, J., SZATTLER, T., BLEICHERT, S., SALEH, L., KNOFLER, M., ZEISLER, H., HENGSTSCHLAGER, M., ROSNER, M., SALZER, H., GUNDACKER, C. - **Mercury toxicokinetics of the healthy human term placenta involve amino acid transporters and ABC transporters.** *Toxicology* 340, (2016) 34–42.
36. BORST, P., EVERS, R., KOOL, M., WIJNHOLDS, J. - **A Family of Drug Transporters: the Multidrug Resistance-Associated Proteins.** *Journal Natl. Cancer Inst.* 92, 16 (2000) 1295–1302.
37. WIJNHOLDS, J., MOL, C. A. A. M., DEEMTER, L. V., HAAS, M., SCHEFFER, G. L., BAAS, F., BEIJNEN, J. H., SCHEPER, R. J., HATSE, S., CLERCQ, E., BALZARINI, J., BORST, P. - **Multidrug-resistance protein 5 is a multispecific organic anion transporter able to transport nucleotide analogs.** *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97, 13 (2000) 7476–7481.
38. YEBOAH, D. SUN, M., KINGDOM, J., BACZYK, D., LYE, S. J., MATTHEWS, S. G., GIBB, W. - **Expression of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in human placenta throughout gestation and at term before and after labor.** *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 84, (2006) 1251–1258.
39. WANG, H., ZHOU, L., GUPTA, A., VETHANAYAGAM, R. R., ZHANG, Y., UNADKAT, J. D., MAO, Q. - **Regulation of BCRP/ABCG2 expression by progesterone and 17beta-estradiol in human placental BeWo cells.** *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 290, (2006) E798–E807.
40. EVSEENKO, D. A., MURTHI, P., PAXTON, J. W., REID, G., EMERALD, B. S., MOHANKUMAR, K. M., LOBIE, P. E., BRENNECKE, S. P., KALIONIS, B., KEELAN, J. A. - **The ABC transporter BCRP/ABCG2 is a placental survival factor, and its expression is reduced in idiopathic human fetal growth restriction.**

FASEB J. 21, (2007) 3592–3605.

41. JAVAM, M., AUDETTE, M. C., IQBAL, M., BLOISE, E., GIBB, W., MATTHEWS, S. J. - **Effect of oxygen on multidrug resistance in term human placenta.** *Placenta* 35, (2014) 324–330.
42. MASON, C. W., BUHIMSCHI, I. A., BUHIMSCHI, C. S., DONG, Y., WEINER, C. P., SWAAN, P. W. - **ATP-Binding Cassette Transporter Expression in Human Placenta as a Function of Pregnancy Condition.** *Drug Metab. Dispos.* 39, 6 (2011) 1000–1007.
43. LYE, P., BLOISE, E., NADEEM, L., GIBB, W., LYE, S. J., MATTHEWS, S. G. - **Glucocorticoids modulate multidrug resistance transporters in the first trimester human placenta.** *J. Cell. Mol. Med.* (2018) 1–9.
44. RIDANO, M. E., RACCA, A. C., FLORES-MARTÍN, J., CAMOLOTTO, S. A., POTAS, G. M., GENTI-RAIMONDI, S., PANZETTA-DUTARI, G. M. - **Chlorpyrifos modifies the expression of genes involved in human placental function.** *Reprod. Toxicol.* 33, (2012) 331–338.
45. NERADUGOMMA, N. K., LIAO, M. Z., MAO, Q. - **Buprenorphine, Norbuprenorphine, R-Methadone, and S-Methadone Upregulate BCRP/ABCG2 Expression by Activating Aryl Hydrocarbon Receptor in Human Placental Trophoblasts.** *Mol. Pharmacol.* 91, (2017) 237–249.
46. BAI, M., MA, Z., SUN, D., ZHENG, C., WENG, Y., YANG, X., JIANG, T., JIANG, H. - **Multiple drug transporters mediate the placental transport of sulpiride.** *Arch. Toxicol.* 91, (2017) 3873–3884.
47. STAUD, F., CERVENY, L., CECKOVA, M. - **Pharmacotherapy in pregnancy; Effect of ABC and SLC transporters on drug transport across the placenta and fetal drug exposure.** *J. Drug Target.* 20, 9 (2012) 736–763.
48. OBAIDAT, A., ROTH, M., HAGENBUCH, B. - **The Expression and Function of Organic Anion Transporting Polypeptides in Normal Tissues and in Cancer.** *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 52, (2013) 135–151.
49. BERVEILLER, P., DEGRELLE, S. A., SEGOND, N., COHEN, H., EVAÏN-BRION, D. - **Drug transporter expression during in vitro differentiation of first-trimester and term human villous trophoblasts.** *Placenta* 36, (2015) 93–96.
50. VÄHÄKANGAS, K., MYLLYNEN, P. - **Drug transporters in the human blood-placental barrier.** *Br. J. Pharmacol.* 158, (2009) 665–678.
51. BURCKHARDT, G. - **Drug transport by Organic Anion Transporters (OATs).** *Pharmacol. Ther.* 136, (2012) 106–130.

52. MA, Z., YANG, X., JIANG, T., BAI, M., ZHENG, C., ZENG, S., SUN, D., JIANG, H. - **Multiple SLC and ABC transporters contribute to the placental transfer of entecavir.** *Drug Metab. Dispos.* 45, (2017) 269–278.
53. HOFMAN, J., KUCERA, R., NEUMANOVA, Z., KLIMES, J., CECKOVA, M., STAUD, F. - **Placental passage of olomoucine II, but not purvalanol A, is affected by p-glycoprotein (ABCB1), breast cancer resistance protein (ABCG2) and multidrug resistance-associated proteins (ABCCs).** *Xenobiotica* 46, 5 (2015) 416–423.
54. NEUMANOVA, Z., CERVENY, L., GREENWOOD, S. L., CECKOVA, M., STAUD, F. - **Effect of drug efflux transporters on placental transport of antiretroviral agent abacavir.** *Reprod. Toxicol.* (2015) 1-7.
55. CHEN, Z., TIWARI, A. K. - **Multidrug Resistance Proteins (MRPs/ABCCs) in Cancer Chemotherapy and Genetic Diseases.** *Febs J* 278, 18 (2012) 3226–3245.
56. JIRASKOVA, L., CERVENY, L., KARBANOVA, S., PTACKOVA, Z., STAUD, F. - **Expression of Concentrative Nucleoside Transporters (SLC28A) in the Human Placenta; Effects of Gestation Age and Prototype Differentiation-affecting Agents.** *Mol. Pharm.* 15, 7 (2018) 2732-2741.
57. NEUMANOVA, Z., CERVENY, L., CECKOVA, M., STAUD, F. - **Role of ABCB1, ABCG2, ABCC2 and ABCC5 transporters in placental passage of zidovudine.** *Biopharm. Drug Dispos.* 37,1 (2016) 28-38.
58. IKEDA, K., UEDA, C., YAMADA, K., NAKAMURA, A., HATSUDA, Y., KAWANISHI, S., NISHII, S., OGAWA, M. - **Carrier -mediated placental transport of cimetidine and valproic acid across differentiating JEG-3 cell layers.** *Pharmazie* 70, (2015) 471–476.
59. RUBINCHIK-STERN, M., SHMUEL, M., BAR, J., EYAL, S., KOVO, M. - **Maternal-fetal transfer of indocyanine green across the perfused human placenta.** *Reprod. Toxicol.* 62, (2016) 100–105.
60. HUTSON, J. R., DAVIS, A., KOREN, G. - **The Human Placental Perfusion Model: A Systematic Review and Development of a Model to Predict In Vivo Transfer of Therapeutic Drugs.** *Clin. Pharmacol. Ther.* (2011) 1–10.
61. INFARMED. - **Gravidez e Utilização Segura de Fármacos I^a Parte: Intercorrências Agudas.** *Bol. Farm.* 5, 2 (2001) 1–4.
62. CHMP. - **EMEA/CHMP/313666/2005 - Guideline on the Exposure to**

- Medicinal Products During Pregnancy: Need for Post-Authorisation Data.**
Eur. Med. Agency (2005) 1-21.
63. LIU, F., SOARES, M. J., AUDUS, K. L. - **Permeability properties of monolayers of the human trophoblast cell line BeWo.** *Am. J. Physiol.* 273, (1997) C1596–C1604.
64. AAGAARD, K. M., LAHON, A., SUTER, M. A., ARYA, R. P., SEFEROVIC, M. D., VOGT, M. V., HU, M., STOSI, F., MANCINI, M. A., HARRIS, R. A., KAHR, M., EPPE, C., RAC, M., BELFORT, M. A., PARK, C. S., LACORAZZA, D., RICO-HESSE, R. - **Primary Human Placental Trophoblasts are Permissive for Zika Virus (ZIKV) Replication.** *Sci. Rep.* 7, (2017) 1–14.
65. STEINBERG, M. L., ROBINS, J. C. - **Cellular Models of Trophoblast Differentiation.** *Semin. Reprod. Med.* 34, (2016) 50–56.
66. GUPTA, R. C. - **Reproductive and developmental toxicology.** 1a Ed. Londres: Elsevier Inc., 2011. ISBN 978-0-12-382032-7.
67. BORGES, M., BOSE, P., FRANK, H. G., KAUFMANN, P., PÖTGENS, A. J. G. - **A two-colour fluorescence assay for the measurement of syncytial fusion between trophoblast-derived cell lines.** *Placenta* 24, (2003) 959–964.
68. MITRA, P., AUDUS, K. L. - **MRP isoforms and BCRP mediate sulfate conjugate efflux out of BeWo cells.** *Int. J. Pharm.* 384, (2010) 15–23.
69. HAHNOVA-CYGALOVA, L., CECKOVA, M., STAUD, F. - **Fetoprotective activity of breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2): Expression and function throughout pregnancy.** *Drug Metab. Rev.* 43, 1 (2011) 53–68.
70. CLABAULT, H., FLIPO, D., GUIBOURDENCHE, J., FOURNIER, T., SANDERSON, T., VAILLANCOURT, C. - **Effects of selective serotonin-reuptake inhibitors (SSRIs) on human villous trophoblasts syncytialization.** *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 349, (2018) 8–20.
71. ROTHBAUER, M., PATEL, N., GONDOLA, H., SIWETZ, M., HUPPERTZ, B., ERTL P. - **A comparative study of five physiological key parameters between four different human trophoblast-derived cell lines.** *Sci. Rep.* 7, (2017) 1–11.
72. NOGUCHI, S., NISHIMURA, T., MUKAIDA, S., BENET, L. Z., NAKASHIMA, E., TOMI, M. - **Cellular Uptake of Levocetirizine by Organic Anion Transporter 4.** *J. Pharm. Sci.* 106, (2017) 2895–2898.
73. BLUNDELL, C., YI, Y., MA, L., TESS, E. R., FARRELL, M. J., GEORGESCU, A., ALEKSUNES, L. M., HUH, D. - **Placental Drug Transport-on-a-Chip: A Microengineered In Vitro Model of Transporter-Mediated Drug Efflux in**

- the Human Placental Barrier.** *Adv. Healthc. Mater.* 7, (2018) 1–9.
74. ALA-KOKKO, T. I., MYLLYNEN, P., VÄHÄKANGAS, K. - **Ex vivo perfusion of the human placental cotyledon: Implications for anesthetic pharmacology.** *Int. J. Obstet. Anesth.* 9, (2000) 26–38.
75. MATHIESEN, L., MOSE, T., MØRCK, T.J., NIELSEN, J. K. S., NIELSEN, L.K., MAROUNC, L. L., DZIEGIELB, M. H., LARSEN, L. G., KNUDSENA, L. E. - **Quality assessment of a placental perfusion protocol.** *Reprod. Toxicol.* 30, (2010) 138–146.
76. NYE, G. A., INGRAM, E., JOHNSTONE, E. D., JENSEN, O. E., SCHNEIDER, H., LEWIS, R. M., CHERNYAVSKY, I. L., BROWNBILL, P. - **Human placental oxygenation in late gestation: experimental and theoretical approaches.** *J. Physiol.* (2018)
77. NEDA, A. N., FAHIMEH, S., TAHEREH, Z. K., LEILA, F., ZAHRA, N., BAHMAN, C., NARGES, C. K. - **Lead level in umbilical cord blood and its effects on newborns anthropometry.** *J. Clin. Diagnostic Res.* 11, 6 (2017) SC01-SC04.
78. BOURGET, P., ROULOT, C., FERNANDEZ, H. - **Models for Placental Transfer Studies of Drugs.** *Clin. Pharmacokinet.* 28, 2(1995) 161–180.

6. Anexo I - Método de perfusão placentária realizado na Universidade de Toronto, Canada (60)

1. Recolha do tecido

2. Identificação de um par artéria-veia fetal que fornece um cotilédone

3. Avaliação da superfície para confirmar que não existem traumas e que está intacta

4. Os vasos fetais são canulados e o fluxo de perfusão é estabelecido

5. O lóbulo é fixado numa câmara com o lado fetal para baixo e o excesso de tecido placentário é retirado

6. A solução salina tamponada presente na câmara suporta o peso do lóbulo e a câmara é colocada num banho de água para manter a temperatura fisiológica

7. A perfusão do lado materno começa com a inserção de agulhas com pontas frouxas no espaço intervuloso (2-3 mm abaixo da superfície decidual)

8. As amostras da circulação venosa materna são colhidas a partir de múltiplas aberturas venosas na placa decidual

9. As circulações fetal (95% N₂ / 5% de CO₂) e materna (95% de O₂ / 5% de CO₂) são controladas de forma independente. Para evitar a toxicidade associada à hiperoxia, alguns grupos utilizam o ar atmosférico em vez de 95% de O₂ / 5% de CO₂.

10. O fluxo influencia o tempo para alcançar a transferência transplacentária e o estado estacionário entre as circulações fetal e materna. Normalmente é de 3 e 12 ml/min para a circulação fetal e materna, respetivamente.

11. Período de controlo: o sangue é lavado e os parâmetros de linha de base são estabelecidos.

12. O fármaco é adicionado à circulação materna ou fetal. O ensaio é realizado numa configuração fechada (recirculando) ou aberta (única passagem). A configuração fechada imita as condições fisiológicas e permite analisar a transferência de fármacos, bem como a distribuição entre os compartimentos materno, placenta e feto. A configuração aberta permite calcular a *clearance* do fármaco no estado estacionário e avaliar o local de acumulação.

13. Monitorização da viabilidade e da integridade da placenta, através da pressão da circulação fetal, pH, consumo de oxigénio, transferência fetal líquida de oxigénio, consumo de glicose, produção de lactato, e síntese e secreção de proteínas, gonadotrofina coriónica humana, lactogénio da placenta humana e leptina.

14. Comparação dos resultados obtidos com resultados *in vivo*