



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Daniela Ferreira da Costa

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Síndrome de Down: Estratégias Terapêuticas para melhoria dos défices cognitivos” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, da Dra. Florbela Braga, da Dra. Alexandra Soares e da Professora Doutora Maria Celeste Lopes apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Julho de 2019



UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

Daniela Ferreira da Costa

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Síndrome de Down: Estratégias Terapêuticas para melhoria dos défices cognitivos”, referentes à Unidade Curricular “Estágio Curricular”, sob a orientação da Dra. Florbela Braga, da Dra. Alexandra Soares e da Professora Doutora Maria Celeste Lopes, e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Julho de 2019

Eu, Daniela Ferreira da Costa, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2014227995, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Síndrome de Down: Estratégias terapêuticas para melhoria dos défices cognitivos” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular 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, 10 de julho de 2019.

Daniela Ferreira da Costa

(Daniela Ferreira da Costa)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, por terem apostado na minha formação e por me apoiarem em tudo, são o meu exemplo de luta e persistência. Aos meus irmãos, por perdoarem todas as minhas ausências. Aos meus avós, à minha madrinha e à minha restante família, por todo o apoio.

Ao Raúl, pelo menino incrível que é, por me inspirar a realizar a monografia sobre este tema.

À Carolina, por ser a prova de que as grandes amizades são para a vida toda. Ao Renato, por estar sempre presente, pela paciência interminável e por toda a motivação.

A Coimbra, pelo meu crescimento pessoal e pelas novas amizades que me trouxe. Às minhas miúdas: à Cecília, à Cátia e à Elodie, por terem feito destes os melhores anos. À Pipas, a minha versão mais nova, e à Ângela, a minha caloira, por terem depositado toda a confiança em mim. À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, a todos os que contribuíram para a minha formação, em especial à Professora Doutora Maria Celeste Lopes, a minha orientadora da monografia, por se ter mostrado inteiramente disponível desde o primeiro dia.

À Dra. Florbela Braga, pela oportunidade e excelente receptividade, e a toda a restante equipa. A todos os farmacêuticos, técnicos de diagnóstico e terapêutica e assistentes operacionais dos Serviços Farmacêuticos do IPO Porto, obrigada pela disponibilidade e por me terem familiarizado com a dinâmica diária deste setor.

À Dra. Alexandra Soares, por me ter concedido a oportunidade de realizar o meu estágio curricular na Farmácia Normal, tendo gerido a orientação de três estágios curriculares simultâneos. A eles, aos meus colegas de estágio, ao António e à Catarina, por toda a partilha e entretajuda. A toda a equipa da Farmácia Normal, por toda a disponibilidade, pela ajuda e pelos bons momentos: à Dra. Alexandra Soares, à Dra. Rita Martins, à Dra. Cátia Araújo, à Dra. Célia Carvalho, à Carla, à Vera, à Branca, ao Couto, ao João e ao Bruno. Obrigada por tudo o que me ensinaram diariamente!

Índice Geral

Índice de figuras.....	7
Índice de tabelas.....	8
Abstract	9
Resumo	10
Parte I – Relatórios de Estágio	11
Lista de Abreviaturas/Siglas	12
1. Introdução Geral.....	14
2. Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar – IPO Porto	15
2.1. Contextualização.....	15
2.1.1. Serviços Farmacêuticos.....	15
2.2. Análise SWOT	16
2.2.1. Forças.....	17
2.2.2. Fraquezas	22
2.2.3. Oportunidades.....	23
2.2.4. Ameaças	25
2.3. Conclusão	26
3. Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária – Farmácia Normal	27
3.1. Contextualização.....	27
3.2. Análise SWOT	28
3.2.1. Forças.....	28
3.2.2. Fraquezas	37
3.2.3. Oportunidades.....	37
3.2.4. Ameaças	39
3.3. Conclusão	41
4. Referências bibliográficas.....	42
4.1. Referências bibliográficas do Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar – IPO Porto	42
4.2. Referências bibliográficas do Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária – Farmácia Normal	44
5. Anexos.....	46
Anexo I: Comunicação farmacêutico-médico	46
Anexo 2 a): Cedência de Medicamentos Hemoderivados, via Farmácia.....	47

Anexo 2 b): Cedência de Medicamentos Hemoderivados, via Serviço	48
Anexo 3: Formulário de prevenção da gravidez da talidomida Celgene®.....	49
Anexo 4: Cronograma do período de estágio	50
Anexo 5: Requisição manual estupefacientes e psicotrópicos.....	50
Anexo 6: Quadro Kaizen	51
Anexo 7: Receita eletrônica desmaterializada- Guia de tratamento.....	52
Anexo 8: Receita eletrônica materializada	53
Anexo 9: Receita Manual	54
Anexo 10: Caso Prático 1	55
Anexo 11: Caso Prático 2	55
Anexo 12: Código Data Matrix	56
Anexo 13 a): Frente <i>flyer</i> informativo.....	57
Anexo 13 b): Verso <i>flyer</i> informativo	58
Anexo 14: Caso prático 3	59
Anexo 15: Intervenção farmacêutica na comunidade escolar	60
Parte II – “Síndrome de Down: Estratégias terapêuticas para melhoria dos défices cognitivos”	61
Lista de Abreviaturas/Siglas	62
1. Introdução.....	64
2. Síndrome de Down: Da abordagem genética à fisiopatologia.....	64
2.1. Epidemiologia	65
2.2. Características fenotípicas e fisiopatologia da doença	66
3. Métodos de rastreio e diagnóstico pré-natal.....	69
4. Modelos de estudo de Síndrome de Down	70
4.1. Modelos animais: murganhos.....	70
4.1.1. Exemplos de estudos pré-clínicos em murganhos.....	71
4.2. Modelos em células estaminais pluripotentes induzidas	73
5. Relação do Síndrome de Down com a Doença de Alzheimer	74
6. Alvos terapêuticos para a diminuição dos défices cognitivos	75
6.1. Terapia farmacológica	76
6.1.1. A nível da neurotransmissão	76
6.1.1.1. Via glutamérgica.....	76
6.1.1.2. Via GABAérgica.....	76
6.1.1.3. Via serotoninérgica	77
6.1.2. A nível da neurodegeneração	78
6.1.2.1. Molécula ELND005	78

6.1.2.2. Minociclina	78
6.1.3. A nível da neurogénese.....	78
6.1.3.1. Ciclosporina A	78
6.1.3.2. Via de sinalização Sonic Hedgehog.....	80
6.2. Suplementação Alimentar	81
6.2.1. Antioxidantes	81
6.2.2. Metabolismo do folato	81
6.3. Imunoterapia	82
6.3.1. Crenezumab	82
6.3.2. Vacina lipossómica ACI-24.....	82
6.4. Terapia génica	82
6.4.1. Controlo da ação dos microRNAs	83
6.4.2. Inserção do gene XIST	84
7. Conclusão e Perspetivas Futuras	85
8. Referências Bibliográficas.....	87

Índice de Figuras

Parte II – “Síndrome de Down: Estratégias terapêuticas para melhoria dos défices cognitivos”

Figura 1: Cariótipo humano de um indivíduo do sexo masculino com Síndrome de Down..	65
Figura 2: Traços faciais característicos do Síndrome de Down	66
Figura 3: Homologia entre o HSA21 e o MMUI6	70
Figura 4: Visão esquemática de uma abordagem experimental com vista na remoção do cromossoma 21 extra em iPSCs trissómicas	74
Figura 5: Efeitos do tratamento neonatal com CSA no tamanho das populações celulares (fase S do ciclo celular) do giro dentado de modelos murganhos euploides e Ts65Dn	79
Figura 6: Estudo da integração do transgene XIST no cromossoma 21 de iPSCs modelo de DS.....	85

Índice de Tabelas

PARTE I- Relatórios de Estágio

Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar – IPO Porto

Tabela I: Análise SWOT 16

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária – Farmácia Normal

Tabela I: Análise SWOT 28

PARTE II- “Síndrome de Down: Estratégias terapêuticas para melhoria dos défices cognitivos”

Tabela I: Principais genes do HSA21 envolvidos no Síndrome de Down 68

Tabela II: Estratégias terapêuticas tendo como alvo a DYRK1A em fase pré-clínica (modelos murganhos) 71

ABSTRACT

This document is divided in two parts: the reports of the internships and a monograph. The first one includes the reports of each of the two internships, examined through a SWOT analysis, at IPO Porto and at Farmácia Normal, between January and June of 2019. The second part is a literature systematic review entitled “Down Syndrome: Therapeutic strategies to improve cognitive deficits”. This literature review contains an overview of Down Syndrome (DS), from the genetic origin to its pathophysiology. Other topics are additionally discussed, such as the methods of prenatal screening and diagnosis, the models of study of this chromosomal disorder, including *in vivo* and *in vitro* models, and the molecular mechanisms involved in DS associated with Alzheimer’s disease. One of the main phenotypic characters of this genetic disease is the intellectual disability, and therefore it is necessary to improve the cognitive deficits of these individuals to make progress in their autonomy and quality of life. This review thereby focuses on some of treatment approaches in preclinical and clinical studies, including pharmacological treatments, food supplements, immunotherapy and gene therapy.

Keywords: Down Syndrome; Genetics; Cognitive Deficits; Therapeutic Strategies; Internships.

RESUMO

Este documento está dividido em duas partes: os relatórios de estágio e uma monografia. A primeira parte inclui os relatórios de estágio, apresentados sob a forma de uma análise SWOT, referentes aos dois estágios curriculares realizados, no IPO Porto e na Farmácia Normal, no período de janeiro a junho de 2019. A segunda parte consiste numa revisão sistemática da literatura intitulada de “Síndrome de Down: Estratégias terapêuticas para diminuição dos défices cognitivos”. Esta revisão da literatura contém uma contextualização do Síndrome de Down (DS), desde a origem genética à sua fisiopatologia. Outros tópicos abordados incluem os métodos de rastreio e diagnóstico pré-natal, os modelos de estudo desta anomalia cromossómica, incluindo modelos *in vivo* e *in vitro*, e os mecanismos moleculares envolvidos no DS associados à doença de Alzheimer. Uma vez que uma das características fenotípicas principais desta condição genética é a deficiência intelectual é necessário melhorar os défices cognitivos destes indivíduos, de forma a ser possível tornarem-se mais autónomos e com melhor qualidade de vida. Neste sentido, esta revisão foca-se em algumas estratégias terapêuticas em fase de estudos pré-clínicos e clínicos, abrangendo tratamentos farmacológicos, suplementação alimentar, imunoterapia e terapia génica.

Palavras-chave: Síndrome de Down; Genética; Défices Cognitivos; Estratégias Terapêuticas; Estágios.

PARTE I

RELATÓRIOS DE ESTÁGIO

Lista de Abreviaturas/Siglas

2D – 2 Dimensões

AC – Anticólicas

ANF – Associação Nacional de Farmácias

AO – Assistente Operacional

ARS – Administração Regional de Saúde

BPF – Boas Práticas Farmacêuticas

CNP – Código Nacional do Produto

DIDDU – Distribuição Individual Diária em Dose Unitária

EC – Ensaio Clínico

EPOP – Escola Portuguesa de Oncologia do Porto

FEFO – Do inglês, *First-expire First-Out*

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

FL – Farmácia Lusitana

FN – Farmácia Normal

IM – Intramuscular

IPO – Instituto Português de Oncologia do Porto

IPOPFG, E.P.E. – Instituto Português de Oncologia do Porto Francisco Gentil, Empresa Pública Empresarial

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MM – Medicamento Manipulado

MNSRM – Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

MNSRM-EF – Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica de dispensa Exclusiva em Farmácia

MSRM – Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

PV – Prazo de Validade

PVF – Preço de Venda à Farmácia

PVP – Preço de Venda ao Público

RCM – Resumo das Características do Medicamento

SC – Subcutânea

SF – Serviços Farmacêuticos

SNS – Serviço Nacional de Saúde

SWOT – Do inglês, *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*

TDT – Técnico de Diagnóstico e Terapêutica

UCI – Unidade de Cuidados Intensivos

UCQ – Unidade Centralizada de Quimioterapia

UPE – Unidade de Preparação de Estéreis

UPNE – Unidade de Preparação de Não Estéreis

VHB – Vírus da Hepatite B

VHC – Vírus da Hepatite C

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana

I. Introdução Geral

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) constitui o elo de ligação entre o ensino universitário teórico-prático e o ambiente laboral, encontrando-se inserido no 2º semestre do 5º ano. Optei pela divisão do meu estágio entre Farmácia Comunitária e Farmácia Hospitalar de forma a ter contacto com duas das variadas saídas profissionais deste curso. A escolha dos Serviços Farmacêuticos (SF) do Instituto Português de Oncologia do Porto Francisco Gentil, Entidade Pública Empresarial (IPOPFG, E.P.E) baseou-se na vontade de vivenciar a prática profissional de um farmacêutico hospitalar num hospital oncológico, área esta pouco abordada ao longo do curso. Quanto à Farmácia Normal, a sua localização, a diversidade de produtos e o movimento desta foram os principais motivos que me levaram a querer estagiar nesta farmácia.

Os presentes relatórios abordam as atividades observadas e desenvolvidas ao longo do meu período de estágio, sendo ambos apresentados sob a forma de uma análise SWOT. A análise SWOT é relativa à frequência do estágio, à integração da aprendizagem teórica e em contexto simulado em ambiente profissional, à adequação do curso às perspetivas profissionais futuras e à profissão de farmacêutico hospitalar e farmacêutico comunitário. Esta análise inclui as Forças (**S**trengths), as Fraquezas (**W**eaknesses), as Oportunidades (**O**pportunities) e as Ameaças (**T**hreats); sendo que as duas primeiras são referentes ao ambiente interno e as restantes duas ao ambiente externo. Neste sentido, defino as Forças como os pontos fortes e as Fraquezas como os pontos fracos, inerentes aos estágios e à minha formação académica. Quanto ao ambiente externo considero-o, enquanto estagiária, como as condicionantes que me permitiram ir além do expectável (Oportunidades) ou me impediram de o fazer (Ameaças); e, enquanto futura farmacêutica, como as circunstâncias favoráveis a uma atividade profissional de sucesso (Oportunidades) ou, pelo contrário, que dificultam de alguma forma o alcance desta (Ameaças).

2. Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar – IPO Porto

2.1. Contextualização

Este estágio teve a duração de 2 meses, durante os quais tive a oportunidade de contactar com os diferentes setores dos SF. O mesmo foi orientado pela Dra. Florbela Braga, Diretora Técnica dos SF do IPOPFG, E.P.E., e pela restante equipa.

O IPOPFG, E.P.E. localiza-se na rua Dr. António Bernardino de Almeida, 4200-072 Porto. Este hospital, parte integrante do Serviço Nacional de Saúde (SNS), presta cuidados de saúde oncológicos à população, de uma forma multidisciplinar, abrangendo os doentes da zona geográfica correspondente à Administração Regional de Saúde (ARS) Norte. As áreas de investigação, formação e ensino também fazem parte da sua missão; existindo para esse fim a Escola Portuguesa de Oncologia do Porto (EPOP)¹.

2.1.1. Serviços Farmacêuticos

A Farmácia Hospitalar é o serviço responsável pelo circuito do medicamento dentro do hospital; desde a sua seleção, aquisição e armazenamento até à sua distribuição pelos vários serviços clínicos. Para além do medicamento, também é da responsabilidade dos SF a gestão de outros produtos farmacêuticos como, por exemplo, dispositivos médicos. O farmacêutico tem um papel ativo no processo de prescrição e de administração das terapêuticas medicamentosas, devendo verificar o cumprimento dos “7 certos”: doente certo, medicamento certo, dose certa, via de administração certa, tempo de administração certo, com a informação certa e a documentação certa². Deve haver uma articulação dos SF com a comissão de farmácia e terapêutica, assim como a participação na Investigação e Ensino¹.

Os SF do IPOPFG, E.P.E. são constituídos por 19 farmacêuticos, 18 técnicos superiores de diagnóstico e terapêutica (TDT), 7 assistentes operacionais (AO) e 3 assistentes técnicos. A farmácia de ambulatório localiza-se no piso 2 e a farmácia central no piso I. Os SF dividem-se em seis áreas distintas: a Distribuição Individual Diária em Dose Unitária (DIDDU), a Distribuição Tradicional, a Farmácia de Ambulatório, os Ensaio Clínicos, a Farmacotecnia e a Unidade Centralizada de Quimioterapia (UCQ). Desta forma, os SF englobam a produção, a gestão e distribuição de medicamentos e outros produtos farmacêuticos.

A distribuição de medicamentos assegura a chegada da medicação certa ao doente certo, em tempo útil. Esta poderá ter como destino os doentes em regime de internamento ou ser destinada aos doentes em regime de ambulatório, via farmácia de ambulatório. Existem

ainda sistemas de distribuição distintos para medicamentos sujeitos a legislação especial e um sistema de distribuição de medicamentos em Ensaios Clínicos.

A Farmacotecnia divide-se na Unidade de Preparação de Não Estéreis (UPNE) e na Unidade de Preparação de Estéreis (UPE). Na primeira são preparados todos os medicamentos manipulados (MM) do hospital, desde os colutórios distribuídos em quimioterapia até às formulações adaptadas a doentes pediátricos ou com necessidades especiais; já na segunda são preparadas misturas de analgesia e nutrição parentérica.

Por último, a UCQ é unidade responsável pela preparação e distribuição de todos os citotóxicos injetáveis e anticorpos monoclonais endovenosos destinados ao tratamento da doença oncológica; sendo também preparados outros fármacos, com ação terapêutica vantajosa em associação com os usados em quimioterapia, como o levofolinato de cálcio e a Mesna.

2.2. Análise SWOT

Tabela I | Análise SWOT

STRENGTHS	WEAKNESSES
<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Observação participada em todos os setores dos SF <input type="checkbox"/> Colaboração em pesquisa bibliográfica necessária <input type="checkbox"/> Acesso ao processo clínico do doente <input type="checkbox"/> Farmácia Clínica <input type="checkbox"/> Farmacovigilância <input type="checkbox"/> Componente laboratorial MICF <input type="checkbox"/> Medicamentos sujeitos a legislação específica 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Duração do Estágio <input type="checkbox"/> Abordagem limitada da área oncológica do MICF <input type="checkbox"/> Falta de Recursos Humanos nos SF <input type="checkbox"/> Receitas manuais de estupefacientes e psicotrópicos
OPPORTUNITIES	THREATS
<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Proximidade com o doente <input type="checkbox"/> Radiofarmácia <input type="checkbox"/> Imunoterapia 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Pouco reconhecimento do Farmacêutico Hospitalar <input type="checkbox"/> Impossibilidade de efetuar registos no processo clínico do doente

Legenda: MICF, Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas; SF, Serviços Farmacêuticos.

2.2.1. Forças

Observação participada em todos os setores dos SF

a) *Distribuição: Distribuição tradicional, DIDDU, Ensaios Clínicos e Farmácia de Ambulatório*

No setor de distribuição tradicional, também designada de distribuição clássica, verifiquei que esta se destinava aos produtos de maior consumo e a serviços com necessidades especiais, em que há uma maior urgência na medicação, como a Unidade de Cuidados Intensivos (UCI)³. Esta via de distribuição tem como objetivo a reposição dos *stocks* nivelados, previamente definidos pelos farmacêuticos, enfermeiros e médicos dos vários serviços clínicos⁴.

Já a Distribuição Individual Diária em Dose Unitária (DIDDU) é responsável pela distribuição diária de medicamentos aos doentes internados, em dose unitária; sendo enviada em função do sistema de prescrição *online*. Observei a receção e a validação da prescrição médica, sendo que só após esta validação são preparados os medicamentos a distribuir⁴, usando carros com módulos de gavetas individuais, identificadas pelo número do processo e da cama do doente. Constatei que o farmacêutico neste setor tem também a função de prestar informação passiva sempre que solicitada pelos outros profissionais de saúde.

Os medicamentos de Ensaios Clínicos (EC) têm um circuito separado dos restantes, não sendo nem distribuídos pela DIDDU nem pela distribuição clássica. Neste hospital são realizados EC para doentes oncológicos, no entanto estes não são restritos a medicamentos oncológicos, incluindo, entre outros, antibióticos, vacinas e antifúngicos. Durante a minha passagem por este setor observei e colaborei na receção de medicação de EC e no seu posterior armazenamento. Foi-me ainda permitido contactar com diferentes protocolos de EC e com a sua preparação. A dispensa destes medicamentos é feita na farmácia de ambulatório, acompanhada geralmente por um diário para o doente fazer os seus registos das tomas, as caixas vazias e os respetivos diários devem ser entregues no final de cada ciclo. A observação desta dispensa, durante o período em que estive na farmácia de ambulatório, permitiu-me ter uma melhor perceção da dinâmica do circuito do medicamento experimental.

A farmácia de ambulatório corresponde ao local onde são dispensados medicamentos e outros produtos de saúde como, por exemplo, suplementos nutricionais, aos doentes aptos a fazerem o tratamento em regime de ambulatório⁴. Todos estes medicamentos são fornecidos de forma gratuita, desde que constem no Formulário de Ambulatório Hospitalar da instituição de saúde e prescritos eletronicamente por médico autorizado. A dispensa é feita

exclusivamente por um farmacêutico, a partir de uma prescrição médica eletrônica e deve ser acompanhada da informação (oral e/ou escrita) acerca da correta utilização do medicamento ou suplemento. O acesso a esta prescrição é feito mediante a apresentação do cartão IPO, podendo ser feito o levantamento da mesma por um representante do doente. Neste setor assegurar a adesão à terapêutica e a farmacovigilância são de elevada importância. Existe uma boa comunicação entre os farmacêuticos deste setor e os médicos (Anexo I); observei vários atendimentos realizados, assim como colaborei na gestão de *stocks*.

b) Farmacotecnia

Na Unidade de Preparação de Não Estéreis (UPNE) são preparadas formulações que não se encontrem disponíveis no mercado, adequadas ao perfil fisiopatológico do doente. Os medicamentos manipulados (MM) preparados destinam-se principalmente à população pediátrica e a doentes com dificuldades de deglutição, sintoma comum em oncologia, uma vez que são preparadas maioritariamente soluções e suspensões orais. Há também uma elevada produção de colutórios destinados a doentes submetidos a quimioterapia e radioterapia. Nesta unidade contactei com as fichas de produção dos MM e os seus rótulos, observando a preparação de vários MM incluindo citotóxicos como o metotrexato. Os citotóxicos, de forma a se obter uma maior proteção do operador, são preparados na UCQ.

Na Unidade de Preparação de Estéreis (UPE) são preparados os medicamentos manipulados que exigem esterilidade, nomeadamente misturas de analgesia e bolsas de nutrição parentérica individualizada. No caso destas últimas são preparadas principalmente para a população pediátrica uma vez que as já disponíveis no mercado para esta faixa etária são escassas. A manipulação destas preparações deve ser realizada em condições ambientais adequadas, havendo assim a necessidade da existência de uma área própria, designada de sala limpa. No IPOFG, E.P.E. esta sala é composta por duas câmaras de fluxo laminar horizontal, uma exclusivamente para a preparação de nutrição parentérica e outra para as outras preparações, que são essencialmente misturas de analgesia.

c) Unidade Centralizada de Quimioterapia (UCQ)

Os fármacos preparados nesta unidade são prescritos por protocolo, tendo o farmacêutico clínico um papel ativo na construção e validação dos mesmos. Após a validação, na UCQ, são realizadas ordens de preparação/rótulos identificativos. A área de produção é composta por 2 salas limpas com pressão negativa, cada uma com duas câmaras de fluxo laminar vertical, de forma a proteger as preparações citotóxicas, mas também o operador e o

ambiente externo⁵. Antes de serem enviadas as preparações para os diferentes serviços é feita uma segunda validação das mesmas por um farmacêutico diferente. O AO coloca-as dentro de cápsulas existentes para o transporte de citotóxicos e envia para o respetivo serviço através do sistema de transporte pneumático existente no IPOPFG, E.P.E., o Bzidrógllo. Neste setor fiz uma observação participada em todo o circuito anteriormente referido, assim como observei a realização do controlo microbiológico.

Medicamentos sujeitos a legislação específica

Desta categoria fazem parte os hemoderivados, as eritropoietinas, as hormonas de crescimento e os estupefacientes e psicotrópicos. Têm um circuito distinto de forma a haver um maior controlo dos mesmos.

Os hemoderivados estão sujeitos a uma legislação especial, Despacho nº 1051/2000, de 14 de setembro⁶, a sua cedência envolve uma requisição do médico do serviço contendo uma justificação clínica, feita através do preenchimento de uma ficha própria (Anexo 2) que contém uma via farmácia e uma via serviço. A mesma ficha é utilizada pelo enfermeiro para proceder ao registo das administrações do medicamento, sendo posteriormente arquivada no processo do doente. O quadro C é preenchido pelo farmacêutico aquando da dispensa, sendo que só pode ceder um máximo de 13 administrações. Neste quadro existe um campo para o preenchimento do lote e do nº de certificado Infarmed de forma a permitir que seja possível a rastreabilidade dos lotes. Colaborei na dispensa destes fármacos, participando ainda na realização do seu inventário e verificação de prazos de validade.

As eritropoietinas estão indicadas para os insuficientes renais crónicos assim como para doentes oncológicos anémicos sujeitos a quimioterapia, sendo a sua prescrição, comparticipação e cedência regulamentadas^{7,8}. Neste hospital a sua cedência pode ser feita para o serviço de Hemodiálise, para onde são enviadas diariamente as eritropoietinas necessárias para o dia seguinte; ou via farmácia de ambulatório. Colaborei na preparação das mesmas para o serviço de hemodiálise, colocando-as num envelope com a identificação do serviço e do dia a que se destinam, com uma etiqueta a alertar para a conservação no frio; assim como observei a sua cedência na farmácia de ambulatório.

As hormonas de crescimento são requisitadas pelo serviço de Endocrinologia e a sua cedência é regulada pela Comissão Nacional para a Normalização da Hormona de Crescimento, que avalia o perfil dos doentes candidatos e acompanha a sua evolução clínica em articulação com o IPOPFG, E.P.E.⁹.

No âmbito dos estupeficientes e psicotrópicos foi-me permitido colaborar na realização do inventário semanal destes fármacos e na sua separação diária para serem distribuídos pelos diferentes serviços clínicos.

Colaboração em pesquisa bibliográfica necessária

Em vários períodos do estágio foi-me solicitada a colaboração na recolha de informação necessária. Destaco a pesquisa acerca da administração do fármaco Aldurazyme® em pediatria, cujo princípio ativo é a laronidase, forma recombinante da α -L-iduronidase humana. Esta foi feita no âmbito da iniciação da administração deste fármaco, proveniente de outra instituição, a uma criança de 2 anos. Verifiquei ainda quais dos analgésicos orais existentes no IPOFG, E.P.E. contêm lactose de forma a esclarecer quais os indicados em doentes com intolerância a este excipiente. Comparei a posologia das vias de administração intramuscular (IM) e subcutânea (SC) do octreotido, com o objetivo de tentar reduzir o número de administrações deste fármaco. Construí também uma tabela com as indicações aprovadas no Resumo das Características do Medicamento (RCM) para a imunoglobulina humana normal dos laboratórios disponíveis na instituição, com o fim de limitar as utilizações *off label* da mesma durante um período de rutura de stock.

Acesso ao processo clínico do doente

O farmacêutico hospitalar é responsável pela validação da prescrição médica, tendo o papel de analisar a concordância entre os medicamentos prescritos, verificar a dose, a forma farmacêutica, a via de administração, a frequência, o horário e a quantidade a ser dispensada. Tem ainda como funções a verificação de outros parâmetros como se o medicamento é extra formulário e se necessita de justificação clínica obrigatória. Neste hospital o farmacêutico tem acesso ao processo informatizado do doente, ou seja, a todas as informações, desde o diagnóstico, peso, altura, parâmetros laboratoriais ao registo das consultas médicas e notas de enfermagem. Este acesso permite ao farmacêutico, durante a validação, fazer uma associação entre o perfil farmacoterapêutico do doente e todas as suas informações clínicas que sejam relevantes, reduzindo assim os possíveis erros resultantes da falta de informação. Em vários momentos do meu estágio observei a consulta de vários processos clínicos.

Farmácia Clínica

A Unidade Centralizada de Quimioterapia (UCQ) conta com a presença de um farmacêutico clínico no Hospital de Dia de Adultos, responsável pela elaboração de protocolos de quimioterapia e pela primeira validação farmacêutica dos mesmos. A elaboração destes protocolos, baseada em evidências científicas, deve ser um processo multidisciplinar em que participam médicos, farmacêuticos e enfermeiros. Devido à maior proximidade do farmacêutico clínico com os restantes profissionais de saúde, a comunicação entre toda a equipa multidisciplinar é melhorada, otimizando todo o processo de elaboração de protocolos de quimioterapia e a validação dos mesmos. Durante este estágio contactei com o trabalho desenvolvido nesta área de Farmácia Clínica. O farmacêutico clínico faz o registo de todas as intervenções efetuadas, observei que as principais estão relacionadas com erros na dose prescrita.

Farmacovigilância

Durante a minha passagem pela Farmácia de Ambulatório pude complementar, em contexto prático, os conceitos adquiridos na Unidade Curricular de Farmacovigilância e Farmacoepidemiologia. No âmbito dos Ensaios Clínicos observei os diários do doente dispensados juntamente com o medicamento/placebo do ensaio em questão, em que eram registados, entre outros parâmetros, os horários das tomas e possíveis alterações sentidas. Constatei que havia um certo receio da parte dos utentes em informarem o profissional de saúde acerca das possíveis reações adversas ao tratamento. Como resposta, o farmacêutico deste setor, com um papel ativo na área da farmacovigilância, alertava para a importância das notificações espontâneas, tendo tido a oportunidade de observar a realização destas.

A talidomida é um dos fármacos dispensados na farmácia de ambulatório que requer especial atenção pois o seu uso foi associado ao desenvolvimento de anomalias congénitas, graves e em número elevado, tendo sido retirada do mercado¹⁰. Mais tarde, foi novamente introduzida para outras indicações como o tratamento de alguns tipos de cancro e da infeção pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH)¹¹. No IPOFG, E.P.E. a sua principal utilização é no tratamento do mieloma múltiplo, em associação com melfalano e prednisona. Desta forma, há necessidade de prevenir uma potencial gravidez nestes doentes, existindo um programa de prevenção de gravidez para ambos os sexos (Anexo 3). É desta forma de elevada importância a farmacovigilância destes doentes, existindo para isso uma folha Excel em que se registam as

datas de dispensa assim como a periodicidade da entrega do formulário de prevenção de gravidez.

Componente laboratorial MICE

Durante as aulas laboratoriais de Farmácia Galénica adquiri conhecimentos sobre boas práticas de preparação de medicamentos manipulados; onde tive contacto com o material utilizado, as matérias primas, as fichas de preparação e os materiais de embalagem. Procedemos à preparação de vários MM, incluindo várias suspensões e soluções orais. Sendo estas as principais formas farmacêuticas preparadas na UPNE do IPOFG, E.P.E., considero que esta unidade curricular se adequa à atividade profissional futura de um farmacêutico hospitalar. As aulas laboratoriais de Tecnologia Farmacêutica I, II e III também me introduziram conceitos que apliquei durante a realização deste estágio, como controlo de qualidade, esterilidade, isotonia e nanopartículas.

2.2.2. FRAQUEZAS

Duração do Estágio

O estágio curricular em Farmácia Hospitalar tem a duração de 280 horas, correspondendo a 2 meses (Anexo 4), considero que seria benéfico o seu alargamento de forma a ser possível permanecer mais tempo em cada setor. Penso que seria particularmente vantajoso o aumento do tempo de permanência no setor de farmácia de ambulatório, pelo elevado número de aspetos a ter em consideração durante o atendimento. Dentro dos aspetos mais importantes encontram-se as indicações terapêuticas, a necessidade de justificações clínicas para a utilização de determinados fármacos em determinadas patologias, os esquemas posológicos, as interações medicamentosas e com alimentos, os efeitos adversos mais frequentes e as quantidades permitidas de serem dispensadas. Foram-me cedidas tabelas resumo de forma a contornar esta quantidade elevada de informação a absorver num curto período de tempo.

Abordagem limitada da área oncológica no MICE

A área oncológica é abordada ao longo do MICE, no entanto, considero que o é feito de forma pouco detalhada. Dado ao número crescente de doenças do foro oncológico e à ascensão de diferentes estratégias terapêuticas nesta área, incluindo as vertentes de

quimioterapia, radiofarmácia e imunoterapia, seria relevante, a meu ver, a existência de uma unidade curricular focada apenas em oncologia. Assim, seria possível uma abordagem que incluísse pormenorizadamente tanto os mecanismos moleculares envolvidos como os alvos e estratégias terapêuticas.

Falta de recursos humanos nos SF

Durante a realização deste estágio deparei-me com a falta de recursos humanos nos SF, desde AO a farmacêuticos. No que diz respeito aos farmacêuticos, isto leva a uma sobrecarga dos profissionais disponíveis, pelo que tarefas que requerem mais atenção, como a validação da terapêutica, tenham de ser feitas num curto período de tempo, aumentando a possibilidade de erros. Esta falta de farmacêuticos é transversal a outros hospitais do SNS, pelo que, a meu ver, constitui uma barreira à qualidade do trabalho desenvolvido pelo farmacêutico hospitalar.

Receitas manuais estupefacientes e psicotrópicos

Dadas as particularidades destes medicamentos, estes são sujeitos a legislação especial¹², estão armazenados numa sala fechada e toda a sua movimentação está sujeita a regras bem definidas que estão sob a vigilância do Infarmed. A distribuição destes ocorre maioritariamente por reposição de *stock* através do registo dos movimentos que pode ser manual ou informático, dependendo dos serviços. Quando manual, a requisição destas substâncias é feita através do modelo aprovado pela portaria 981/98¹³ (Anexo 5). O preenchimento deste aumenta a possibilidade de erros na medicação cedida, assim como aumenta o tempo dispensado pelo farmacêutico para assinar e confirmar o que está prescrito. Desta forma, seria vantajosa a requisição eletrónica destes fármacos em todos os serviços.

2.2.3. OPORTUNIDADES

Proximidade com o doente

O distanciamento entre a farmácia central e os utentes é contornado através da farmácia de ambulatório e da existência do farmacêutico clínico no hospital de dia. Tive a oportunidade de interagir com o doente oncológico, tanto na farmácia de ambulatório como nas visitas efetuadas ao hospital de dia e pediatria, esta última foi feita com o objetivo de conferir as quantidades e validades do *stock* de MM do piso.

Imunoterapia

A aplicação da imunoterapia em oncologia é uma área em enorme ascensão. Em condições normais o sistema imunitário teria a capacidade de combater as células tumorais, no entanto, estas desenvolvem mecanismos de resistência aos mecanismos de defesa do organismo. A imuno-oncologia procura reverter esta resistência por parte das células tumorais de forma ao sistema imunológico ser efetivo na eliminação das mesmas¹⁴. Existem diferentes estratégias terapêuticas, entre estas encontram-se os inibidores do *checkpoint* imunológico (ex: pembrolizumab e nivolumab)¹⁵. Durante a realização deste estágio, aprofundi os meus conhecimentos nesta área assistindo a uma palestra da farmacêutica Dra. Maria Nazaré Rosado intitulada “Via verde para a gestão da toxicidade da imunoterapia” no II Encontro dos Serviços Farmacêuticos, realizado no IPOPFG, E.P.E. e através do contacto com os próprios fármacos na UCQ. Tive ainda a oportunidade de estar presente numa formação da Janssen acerca do anticorpo monoclonal daratumumab, indicado no tratamento de mieloma múltiplo.

Radiofarmácia

Embora a radiofarmácia não esteja inserida nos SF do IPOPFG, E.P.E., conta com a presença de uma farmacêutica. Considero a passagem por este setor como uma oportunidade uma vez que é uma outra vertente da Farmácia Hospitalar. Os radiofármacos são constituídos pela associação de um radionuclídeo e um sistema químico, sendo este último responsável pelas propriedades farmacocinéticas. O radionuclídeo ao decair pode emitir diferentes tipos de radiação ionizante: radiação alfa, beta, gama e positrões. Dependendo das características do radionuclídeo, os radiofármacos podem ser usados com dois fins: diagnóstico ou terapêutica. No diagnóstico a radiação emitida pelo radionuclídeo (fótons gama ou positrões) é captada por um detetor, tornando possível a visualização das estruturas morfológicas e/ou funções fisiológicas. Quando o fim pretendido é terapêutico, a radiação (sobretudo emissão beta) é direcionada para a área corporal alvo, destruindo seletivamente determinadas células. O seu tempo de semivida varia, sendo que os tempos de semivida mais curtos são preferenciais para diagnóstico e os mais longos para terapêutica¹⁶.

Foi-me explicado, de forma sucinta, os diferentes métodos de produção de radionuclídeos, o processo de marcação, o plano diário da radiofarmácia e as regras de radioproteção. Foi-me permitido observar imagens de Tomografia por Emissão de Positrões (PET) obtidas, acompanhadas de uma breve explicação; neste caso utiliza-se um radionuclídeo

emissor de positrões e o sistema químico é constituído por moléculas que participam ativamente no metabolismo humano. A PET é uma das mais avançadas técnicas de diagnóstico médico, tendo uma enorme aplicação em oncologia¹⁷.

2.2.4. AMEAÇAS

Pouco reconhecimento do farmacêutico hospitalar

O farmacêutico hospitalar é parte integrante da equipa multidisciplinar que presta serviços aos utentes numa instituição de saúde. No entanto, o seu papel não tem o devido reconhecimento pela parte dos utentes, dos outros profissionais de saúde e da sociedade em geral¹⁸. A distância física a que o farmacêutico hospitalar se encontra dos doentes, assim como da restante equipa, contribui para esta falta de reconhecimento. Como referido anteriormente, a existência de um farmacêutico clínico no Hospital de Dia vem contornar esta situação aumentando o reconhecimento da importância desta profissão. Desta forma, a implementação desta medida noutros serviços clínicos, assim como em outros hospitais, constituiria, em parte, um impedimento a esta ameaça à profissão farmacêutica. A aproximação criada conduziria a uma comunicação ideal entre profissionais de saúde, assim como a um ambiente de trabalho favorável a partilhas de conhecimentos científicos das diferentes áreas, sendo vantajoso tanto para os doentes como para os próprios profissionais.

Impossibilidade de efetuar registos no processo clínico do doente

Como supracitado, o acesso ao processo clínico do doente por diferentes profissionais de saúde minimiza os erros resultantes da falta de troca de informação. Apesar de o farmacêutico neste hospital ter acesso ao processo, vê-se impossibilitado de escrever no mesmo. Considero que seria benéfico criar no sistema informático um local para registar intervenções farmacêuticas de forma a estas ficarem visíveis pelos outros profissionais.

2.3. CONCLUSÃO

A minha passagem por todos os setores dos SF do IPOFG, E.P.E., e ainda adicionalmente pela radiofarmácia, permitiu-me ter uma visão abrangente do trabalho de um farmacêutico hospitalar, concretamente no ramo oncológico. Observei a realização das tarefas do dia-a-dia desta profissão, tendo executado algumas destas após adquirir os conceitos teóricos. Toda a equipa prontificou-se a colaborar na minha formação prática e encontrou-se sempre disponível para o esclarecimento das minhas dúvidas.

Considero que o estágio curricular permite ir além dos conhecimentos adquiridos ao longo do curso, constituindo uma boa conexão entre a formação universitária e a entrada no mercado de trabalho. Já tinha tido contacto com as áreas de Farmácia Comunitária e Distribuição Farmacêutica em estágios de Verão, pelo que a realização deste estágio me possibilitou familiarizar com outra das diferentes saídas profissionais do MICF. Considero assim que este estágio foi extremamente positivo para a minha formação académica.

3. Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária – Farmácia Normal

3.1. Contextualização

A Farmácia Normal (FN) localiza-se, desde 2016, na rua 5 de Outubro n.º 1847 Vila do Conde, Porto. Possui 10 funcionários permanentes: 4 farmacêuticos, 4 técnicos de farmácia, 1 técnica de cosmética e 1 auxiliar de armazém; contando ainda com a presença de 3 funcionários a tempo parcial: 1 gestor de encomendas, 1 auxiliar de limpeza e 1 funcionária que faz o fecho de caixa. A existência destes funcionários a tempo parcial resulta da FN ser parte integrante da Sociedade 4480 Farmácia Lda., juntamente com a Farmácia Lusitana (FL), trabalhando estes elementos em ambas as farmácias. A função de Direção Técnica é assegurada pela Dra. Maria Alexandra Gajo Amorim Soares.

As instalações da FN estão concordantes com as Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária (BPF)¹. Exteriormente esta está identificada por dois painéis luminosos com o símbolo “cruz verde”, existe uma placa exterior com o nome da Farmácia e da diretora técnica; o horário de funcionamento da farmácia está colocado nas montras onde são colocados produtos e informação acerca dos mesmos, estas montras variam consoante a altura do ano. Dispõe ainda de um ecrã luminoso em uma das montras onde são publicitados variados produtos e campanhas.

No seu interior, a farmácia usufrui de uma ampla área de atendimento, com 6 balcões e 2 gabinetes. Nestes gabinetes são realizadas desde formações a atendimentos confidenciais, quando necessários; um está mais reservado a consultas de nutrição e outro à prestação de serviços farmacêuticos como medições de pressão arterial, parâmetros bioquímicos e administração de injetáveis. Possui também uma casa de banho para os utentes. No *back office* localiza-se o laboratório, com as condições e equipamentos presentes na legislação, embora a preparação de manipulados seja da responsabilidade da FL. Conta ainda com um quarto de apoio ao serviço, um escritório, uma casa de banho para os funcionários e a área de armazenamento.

3.2. Análise SWOT

Tabela I| Análise SWOT

STRENGTHS	WEAKNESSES
<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Localização e Horário da Farmácia Normal <input type="checkbox"/> Filosofia de Melhoria Contínua Kaizen <input type="checkbox"/> Organização do Espaço da Farmácia <input type="checkbox"/> Receção e Armazenamento de encomendas e outras atividades do <i>back office</i> <input type="checkbox"/> Controlo de estupefacientes e psicotrópicos <input type="checkbox"/> Preparação de medicamentos para as instituições <input type="checkbox"/> Controlo dos prazos de validade e monitorização da temperatura e humidade <input type="checkbox"/> Sistema informático: Sifarma 2000® e novo módulo de atendimento do Sifarma <input type="checkbox"/> Dermocosmética e Puericultura <input type="checkbox"/> Aconselhamento Farmacêutico <input type="checkbox"/> Prestação de Serviços Farmacêuticos <input type="checkbox"/> Sistema Nacional de Verificação de medicamentos 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Preparação de medicamentos manipulados <input type="checkbox"/> Aconselhamento de produtos veterinários
OPPORTUNITIES	THREATS
<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Procura crescente de produtos biológicos e biodegradáveis <input type="checkbox"/> Ascensão da área da fitoterapia <input type="checkbox"/> Proximidade com a população 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Facilidade de acesso a fontes de informação pouco fiável <input type="checkbox"/> Existência de inúmeros locais de venda de MNSRM, suplementos alimentares e dermocosmética <input type="checkbox"/> Medicamentos esgotados

3.2.1. Forças

Localização e Horário da Farmácia Normal

A Farmácia Normal (FN), encontra-se numa zona privilegiada da cidade de Vila do Conde, devido ao fácil acesso para os clientes habituais e a ser uma zona de passagem para os turistas e clientes ocasionais. A poucos metros da farmácia encontra-se o Lidl® e o McDonald's® assim como uma paragem de autocarro e uma estação de metro (Portas

Fronhas). Anteriormente encontrava-se no centro da cidade de Vila do Conde, tendo mantido bastantes dos seus clientes fidelizados.

A FN encontra-se aberta todos os dias do ano, das 8h30 às 22h, com exceção dos dias de serviço em que se encontra aberta 24h. Este horário alargado permite às pessoas deslocarem-se à mesma após o horário laboral, sendo que a partir das 18h se observa tendencialmente um fluxo de clientes aumentado. Este horário de funcionamento exige que os funcionários trabalhem por turnos, alternando assim os seus horários semanalmente. Devido ao meu estágio ter ocorrido simultaneamente com o de mais dois estagiários, tivemos horários rotativos, o que me permitiu ter um contacto com esta realidade da mudança semanal de horário. Este horário teve também como vantagem o contacto com diferentes realidades pois a faixa etária dos utentes da farmácia varia muito consoante a altura do dia.

Filosofia de Melhoria Contínua Kaizen

A Farmácia Normal implementou a metodologia Kaizen, cuja filosofia consiste na melhoria diária, em todas as áreas da farmácia, desde os processos internos aos serviços disponibilizados pela mesma, envolvendo todos os seus colaboradores. Esta ferramenta permite que a equipa trabalhe de forma normalizada e mais eficiente, viabilizando a medição do desempenho da mesma. Os níveis de Kaizen Diário presentes na FN consistem na organização da equipa (nível 1) e na organização dos espaços (nível 2). O Kaizen Diário Nível 1 conta com a presença de um Quadro Kaizen onde é colocada toda a informação relevante, como, por exemplo, formações, campanhas e os resultados de determinados indicadores (Anexo 6). No que diz respeito ao Kaizen Diário Nível 2 estão delineadas as áreas de trabalho, de forma a otimizar o espaço e a sua funcionalidade, melhorando a organização da farmácia e aumentando a produtividade e motivação dos colaboradores.

Considero como vantajosa a realização do meu estágio numa farmácia com este método pois permitiu-me ter assim um contacto próximo com esta realidade de melhoria contínua.

Organização do Espaço da Farmácia

A organização da farmácia permitiu a minha fácil adaptação à localização dos diversos produtos. Quanto ao espaço de armazenamento, todos os produtos existentes nesta área estão organizados por ordem alfabética e por ordem FEFO (“First-Expire, First-Out”). Os medicamentos estão divididos consoante sejam medicamentos de marca comercial ou

genéricos e por forma farmacêutica. Existem ainda localizações especiais para determinados medicamentos, devido à necessidade de maior controlo destes, como antibióticos, benzodiazepinas, fármacos para a disfunção erétil e estupefacientes e psicotrópicos. Estes últimos encontram-se num armário de acesso restrito, consoante o fixado pelo Dec. Lei nº15/93, de 22 de janeiro². Os produtos que exijam condições de armazenamento a baixas temperaturas, encontram-se no frigorífico (2°C - 8°C), cuja temperatura é monitorizada ininterruptamente. Nesta área também se encontram armazenados os excessos do *front office*, organizados por marca e categoria.

No que diz respeito à área de atendimento ao público, os MNSRM, incluindo os MNSRM-EF, encontram-se por detrás do balcão, bem visíveis, organizados por indicação. Destaco a tosse, os problemas respiratórios e as alergias como as principais patologias observadas durante o meu atendimento ao balcão, o que se relaciona com o facto de o período do meu estágio coincidir com o final do Inverno e a Primavera. Desta forma, a organização dos lineares por patologia permitiu-me uma maior facilidade na realização do aconselhamento farmacêutico. Ainda na zona posterior aos balcões encontram-se, em gavetas, os suplementos alimentares e medicamentos de maior procura, como paracetamol, contraceptivos orais e produtos de uso veterinário.

Na área exterior aos balcões existem vários expositores organizados de forma estratégica. Nas zonas quentes, ou seja, zonas em que há um maior contacto dos utentes com os produtos³, estão localizados os cuidados de higiene e tratamento capilar e a dermocosmética, de forma a publicitar os mesmos. Por outro lado, nas zonas frias, locais de baixo fluxo espontâneo de utentes, como os cantos e as zonas mais próximas das montras³, encontram-se, entre outros, os produtos de ortopedia, tensiómetros e cuidados de podologia pois são produtos comprados apenas quando são necessários e, geralmente, de forma prevista.

Receção e Armazenamento de encomendas e outras atividades do *back office*

A receção de encomendas foi a primeira atividade que desenvolvi no meu estágio, realizando-a ao longo dos 4 meses, permitindo-me conhecer os diferentes produtos e, aquando da sua arrumação, familiarizar-me com a sua localização. Considero assim que foi essencial saber realizar bem esta tarefa anteriormente à realização de atendimentos ao balcão.

Os principais fornecedores da FN são a OCP Portugal e a Alliance Healthcare. As encomendas a estes podem ser diárias, com o intuito da nivelação dos *stocks*, ou instantâneas, de forma a satisfazer pedidos específicos. Nesta última categoria podem-se incluir ainda as

encomendas pela Via Verde, sendo esta uma via excepcional de abastecimento, destinada a produtos urgentes. Podem também ser efetuadas compras diretamente aos laboratórios, principalmente na área de dermocosmética e nutrição. Há ainda uma grande quantidade de produtos que chegam à FN, quase diariamente, provenientes da FL.

As encomendas chegam à farmácia em contentores devidamente identificados, possuindo uma cor diferente (azul) no caso de transporte de produtos sob refrigeração. Estes possuem prioridade na receção e armazenamento, de forma a assegurar o cumprimento desta etapa da cadeia de frio. A receção é feita no Sifarma 2000®, no separador de “Recepção de Encomendas”, inserindo-se, primeiramente, o número e o valor da fatura que acompanha os respetivos contentores. De seguida, é registado o Código Nacional do Produto (CNP) de cada produto presente na encomenda, recorrendo a um leitor de código de barras. Após a identificação de todos os produtos é confirmado o número de unidades, os PVP e PVF individuais, e o valor total da encomenda. No caso dos produtos de venda livre, é calculado o PVP, consoante as margens praticadas para cada produto, sendo estes posteriormente marcados com a respetiva etiqueta. São sempre verificadas as validades e atualizadas no sistema informático, caso sejam inferiores às do stock já existente. As faturas apresentam diversas informações, variando a sua apresentação de fornecedor para fornecedor, foram-me explicadas, desde o primeiro dia de estágio, as particularidades de cada uma. Após a receção das encomendas estas são armazenadas nos respetivos locais acima referidos.

No final de cada mês é realizada uma preparação para o inventário em que é gerada uma lista que inclui todos os produtos com situações anómalas como, por exemplo, *stocks* negativos e preços exorbitantes. Após ser gerada esta lista são conferidos os *stocks* reais destes produtos e é efetuada a correção dos preços. Colaborei na realização destas tarefas assim como na criação de guias de transferência, na realização de devoluções e regularização das mesmas, e na correção de *stocks*.

Controlo de estupefacientes e psicotrópicos

Particpei em todo o circuito destes medicamentos dentro da farmácia, desde a sua receção e armazenamento imediato no armário próprio à sua cedência aos utentes. No momento da arrumação dos produtos pertencentes a esta categoria são verificados os *stocks* existentes de forma a conferir se os mesmos correspondem aos *stocks* informáticos. Quinzenalmente, é emitida uma lista das entradas e saídas destes e feita uma contagem física de forma a verificar a sua conformidade. Observei ainda a realização da conferência destes

produtos, em que é necessário conferir os dados registados informaticamente, comparando com as faturas arquivadas. No ato de dispensa de medicamentos estupefacientes e psicotrópicos é necessário o preenchimento, informático, dos dados identificativos do utente e do seu representante, caso não seja o próprio a levantar a medicação^{4,5}. Após a venda é emitido um documento com os detalhes da dispensa, posteriormente arquivado em capa própria.

Preparação de medicamentos para as instituições

A FN possui protocolos com três lares de idosos do concelho de Vila do Conde: a Diferente Harmonia, o Centro Paroquial de Mindelo e a Vila Dom Bosco. Estas instituições solicitam a medicação para cada utente, geralmente via *e-mail*, sendo posteriormente feita a entrega ao domicílio em cada uma delas. Participei no processo de preparação destes medicamentos, durante o qual são criadas ou atualizadas as fichas individuais já existentes, de forma a ser realizado um acompanhamento farmacoterapêutico adequado.

Regimes de comparticipação e conferência de receituário

A prescrição de receitas pode ser feita por meios eletrónicos ou ser manual. A prescrição eletrónica inclui a prescrição eletrónica desmaterializada (Anexo 7), em que o único documento em papel é a guia de tratamento para o utente, e a prescrição eletrónica materializada (Anexo 8), em que a receita é impressa. Embora a grande maioria das receitas sejam atualmente eletrónicas ainda existem prescrições manuais, resultantes de situações excecionais, de acordo com a legislação em vigor. Estas devem possuir a exceção assinalada com uma cruz no canto superior direito (Anexo 9). Para além disto, no momento da dispensa é necessário verificar o preenchimento correto dos dados do utente, a identificação do médico, o número de medicamentos prescritos (máximo de 4 distintos) e o número de embalagens (máximo de 2 por medicamento, ou 4 no caso doses unitárias, e máximo de 4 embalagens por receita), a validade da receita e a assinatura do prescriptor. As receitas aviadas são codificadas em lotes de trinta receitas, separadas por regime de comparticipação. Após a organização do receituário em papel é necessário proceder à sua conferência. Tive contacto com estas através do atendimento e, colaborei na conferência das mesmas e separação por organismos e lotes, realizada mensalmente. Desta forma, fui-me familiarizando com os inúmeros regimes de comparticipação, sendo os mais comuns o 01 (SNS), o 48 (pensionistas) e o DS (diabetes).

Controlo dos prazos de validade e monitorização da temperatura e humidade

As funções de um farmacêutico comunitário vão muito para além do atendimento ao público, incluindo inúmeras outras tarefas como o controlo dos prazos de validade (PV) e a monitorização da temperatura e humidade.

De forma a ser feita uma boa gestão dos produtos com o PV a aproximar-se do fim, todos os meses é impressa uma lista destes cuja validade termina nos 6 meses seguintes. Após impressão da mesma são conferidas as quantidades e validades reais com as da lista, sendo, quando necessária, atualizada esta informação no sistema informático. No caso dos MSRM estes ficam no local com um elástico de cor em volta dos mesmos; já os produtos de venda livre são colocados em prateleiras próprias consoante o mês em que expira a validade, de forma a ser lembrada a sua venda e devolução, quando oportuna. A devolução à maioria dos laboratórios é feita com dois meses de antecedência, exceto para produtos do Protocolo da Diabetes, como tiras-teste, que a devolução é feita 6 meses antes da data expirar. Existem alguns laboratórios que não aceitam devoluções, sendo esta gestão importante para vender os produtos atempadamente. No momento em que se verifica que os produtos têm baixa procura, são alterados informaticamente os níveis mínimo e máximo de *stock* de forma a evitar que, caso se venda este ou seja devolvido seja gerada uma encomenda automática de outro. Colaborei na realização mensal deste controlo dos PV.

A estabilidade dos medicamentos depende, entre outros fatores, da temperatura e humidade a que estes estão sujeitos, desta forma é efetuado um registo bidário das temperaturas e humidade no armazém, no laboratório e na área de atendimento ao público. Em relação ao frigorífico, este possui um *data logger* que faz o registo contínuo da temperatura, obtendo-se os resultados da variação da temperatura semanalmente, através de um gráfico. Observei estes gráficos obtidos onde me foi explicado que os pequenos picos de temperatura observados num deles tinham sido resultado da arrumação do frigorífico e, portanto, da abertura da porta por um período prolongado.

Sistema Informático: Sifarma 2000® e novo módulo de atendimento do Sifarma

No início do meu estágio aprendi a utilizar o Sifarma 2000®, realizando desde a receção de encomendas ao atendimento neste. No entanto, após este período inicial foi-me proposta a utilização do novo módulo de atendimento do Sifarma. Antes da realização do estágio efetuei uma formação da Associação Nacional de Farmácias (ANF) acerca deste, na FFUC e, durante a realização do estágio, foi-me permitido a realização de uma formação *e-learning* assim como

a utilização de um sistema teste online. Vejo de elevada importância o contacto com ambos pois no meu futuro profissional já estarei familiarizada com estes. Devido a não ser ainda possível realizar todo o processo de atendimento no novo módulo, como consulta do histórico farmacoterapêutico gravado no outro sistema, torna-se mais moroso o atendimento ao público utilizando este. No entanto, o mesmo apresenta várias vantagens, como a possibilidade de separação de vários componentes da venda em diferentes faturas, sendo que nos períodos de menor fluxo optava por usar o novo módulo.

Dermocosmética e Puericultura

A FN possui uma elevada quantidade e variedade de produtos pertencentes a Dermocosmética e a Puericultura. Ao longo do meu estágio pude complementar os conhecimentos adquiridos ao longo do MICF neste âmbito.

Para além de toda a informação transmitida pela técnica de cosmética, assim como pelos restantes profissionais, tive uma abrangente formação na área de dermocosmética pelas marcas Bioderma[®], Uriage[®], Cosmética Ativa[®] e ISDIN[®]. Esta é uma das áreas em que mais situações diversas surgem, sendo essencial uma formação, tanto teórica como prática, sólida para a realização de um correto aconselhamento. Este aconselhamento torna-se mais fácil quando o utente já possui um diagnóstico médico prévio, caso contrário é fundamental avaliar quando é necessário ou não encaminhamento do caso para o médico. Casos como a dermatite atópica em adultos são, muitas vezes, desvalorizados por estes, solicitando apenas ajuda em situações de crises (Anexo 10). Cabe assim ao farmacêutico alertar para a importância da utilização diária de produtos adequados para cada tipo e estado de pele.

Os produtos infantis mais solicitados prendem-se com os leites em pó, biberões e chupetas. A existência de uma grande diversidade de produtos de Puericultura na FN atrai os clientes a adquirem-nos nesta farmácia, tendo, assim, observado diferentes pedidos. Em relação aos leites os fatores a ter em consideração são a idade dos bebés assim como as possíveis alergias e intolerâncias aos seus componentes. As cólicas constituem um dos problemas mais frequentes nos recém-nascidos, existindo inúmeros produtos no mercado para dar resposta a esta condição. Estas soluções incluem antiflatulentos (ex: Aero-OM[®]-simeticone), a utilização de leites apropriados (ex: Novalac AC[®]) e até mesmo a utilização de biberões adequados, como os da Dr Browns[®]. Estes últimos possuem um sistema interno que elimina o vácuo e reduz a acumulação de bolhas de ar, reduzindo desta forma as cólicas e a deterioração dos nutrientes.

Aconselhamento Farmacêutico

O ato de dispensa de produtos farmacêuticos em farmácia comunitária deve ser sempre acompanhado por um correto aconselhamento. Este deverá ser mais detalhado no caso de MNSRM, solicitados sem indicação médica, de forma a avaliar da melhor forma a situação. Deste modo, deverão ser feitas um conjunto de perguntas pertinentes a cada caso de forma a avaliar quais são os sintomas, a sua duração e intensidade, o fator desencadeante dos mesmos. Em todas as situações é fundamental saber os antecedentes fisiológicos e patológicos do utente assim como a medicação habitual do mesmo, de forma a não ceder nenhum medicamento contraindicado ou que poderá interagir com os restantes (Anexo II).

Na FN existe um dossier onde estão arquivados os diferentes protocolos de indicação farmacêutica, estes são de elevada utilidade pois incluem os fatores a ter em consideração em cada situação, os critérios para referenciação médica, as estratégias terapêuticas disponíveis assim como medidas não farmacológicas a aconselhar. Em diversas ocasiões do meu estágio consultei os mesmos, ajudando-me a sistematizar a informação adquirida ao longo do MICEF e o conhecimento transmitido pelos diferentes profissionais da FN.

Prestação de serviços farmacêuticos

No ambiente de Farmácia Comunitária podem ser prestados diferentes serviços farmacêuticos de promoção da saúde e do bem-estar dos doentes, sendo definidos pela portaria n.º 1429/2007, de 2 de novembro⁶. Esta foi revista e atualizada, tornando-se agora mais abrangente (Portaria 97/2018), incluindo, entre outros, consultas de nutrição, testes rápidos para o rastreio de infeções por VIH, VHC e VHB e cuidados na prevenção e tratamento do pé diabético⁷.

Um dos serviços legislados consiste na utilização de meios auxiliares de diagnóstico e terapêutica⁷, tendo prestado este serviço realizando medições de tensão arterial e de parâmetros bioquímicos. Estes últimos foram feitos apenas recorrendo a amostras sanguíneas, tendo incluindo medições de glicémia, colesterol total e triglicéridos. A medição da tensão arterial é um serviço prestado à população pela farmácia Normal de forma gratuita, considero de elevada importância esta área de atuação farmacêutica, sendo importante este acompanhamento e, em determinados casos, o encaminhamento oportuno do utente para serviços médicos. Durante a realização do meu estágio acompanhei a evolução de utentes que através de medidas não farmacológicas, como a adoção de um estilo de vida mais saudável, com ênfase na redução do sal e na realização de caminhadas, conseguiram reduzir os valores

de tensão arterial de níveis normais altos para níveis normais e, até mesmo níveis ideais. Dos vários utentes que efetuavam esta medição regularmente na FN, destaco ainda a medição da pressão arterial quase diária de uma utente com gravidez pré-eclâmpsia, comprovando a importância da prestação deste serviço. Os restantes testes, embora em menor número, também possuem elevada procura.

As doenças cardiovasculares constituem a principal causa de morte a nível mundial, possuindo, na sua maioria, sintomas silenciosos; desta forma, é de elevado interesse o rastreio destas⁸. No mês de maio, sendo o mês do coração, foram realizados rastreios cardiovasculares, permitindo um acesso por toda a população de forma gratuita a estes. Nestes rastreios foram feitas medições de colesterol total, glicémia e pressão arterial; sendo que valores elevados destes três parâmetros estão diretamente relacionados com um aumento do risco cardiovascular. Foi-me permitida a realização dos mesmos em conjunto com os restantes estagiários, tendo tido um papel ativo na consciencialização da população para a importância do controlo destes fatores.

Sistema Nacional de Verificação de Medicamentos

Devido à descoberta de um elevado número de medicamentos falsificados, constituindo estes um problema de saúde pública⁹, a União Europeia criou a diretiva 2011/62/EU, exigindo a implementação de dispositivos de segurança em alguns medicamentos, harmonizados em toda a União Europeia¹⁰. Estes medicamentos incluem os MSRM e os MNSRM que sejam comparticipados ou com histórico de falsificações.¹⁰ Este identificador único consiste num código 2D, Data Matrix (anexo 12), presente na embalagem dos medicamentos, com o código do produto, o número de série, o número do lote, o prazo de validade e número nacional de registo, quando exigido. É gerado pela indústria farmacêutica, sendo também da responsabilidade desta a criação e gestão de sistemas de repositórios nacionais e da *Hub* Europeia, e, posteriormente, lido por leitores apropriados a nível das farmácias e hospitais, onde verificam a autenticidade e desativam o identificador único. A reativação deste código só é possível, num prazo limite de 10 dias, em dois casos: anulação da venda ou devolução do medicamento, caso este não tenha saído da farmácia. Sendo um código único permite a serialização e a rastreabilidade da embalagem do medicamento, ao longo de todo o circuito de distribuição. A partir do dia 9 de fevereiro de 2019 todas as farmácias tiveram de possuir um sistema operativo operacional para trabalhar com este sistema de verificação do medicamento, tendo executado este procedimento durante o atendimento.

3.2.2 Fraquezas

Preparação de medicamentos manipulados

Um medicamento manipulado é definido como “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico”, de acordo com o Decreto-Lei nº 95/2004, de 22 de abril¹¹. Estes medicamentos são solicitados quando o mercado não possui formulações adequadas ao perfil fisiopatológico do doente como, por exemplo, formas farmacêuticas não adequadas à população pediátrica ou associação de substâncias ativas não existente. A maior parte dos manipulados solicitados na FN são no campo da Dermatologia. Uma vez que todos os medicamentos manipulados da Farmácia Normal são produzidos no laboratório da Farmácia Lusitana, não foi possível vivenciar a prática diária desta função.

Aconselhamento de produtos veterinários

A poucos metros da FN localiza-se o Hospital Veterinário de Vila do Conde, existindo, por isso, um elevado número de pessoas a adquirirem os produtos veterinários nesta farmácia. Embora em muitos dos casos os clientes já venham com as recomendações do veterinário, foi-me pedido várias vezes aconselhamento. Senti algumas dificuldades pois desconhecia muitos dos produtos existentes e as suas indicações. Considero que estas dificuldades resultaram, em parte, da carência de uma abordagem prática na Unidade Curricular de Preparações de Uso Veterinário.

Ao longo do estágio familiarizei-me gradualmente com estes produtos, embora houvesse pouca diversidade dos mesmos na FN, sentindo-me, no final deste, com maior capacidade de fazer um correto aconselhamento nesta área, no entanto não totalmente segura para o fazer de forma autónoma.

3.2.3. Oportunidades

Procura crescente de produtos biológicos e biodegradáveis

O mercado de produtos biológicos está em acentuado crescimento a nível mundial, observando-se essa tendência em Portugal. O consumo de produtos resultantes de uma agricultura biológica acarreta inúmeras vantagens como a redução da exposição a pesticidas, a redução do risco de alergias e a diminuição da resistência a antibióticos, resultante do uso excessivo de antibióticos na agricultura convencional¹². Na área de nutrição infantil a FN tem

presente a gama de alimentos infantis biológicos Holle® com produtos lácteos, papas de cereais, boiões, *smoothies*, *snacks* e outros produtos. Já na área de suplementação tem disponível diversos suplementos alimentares da marca Fold® e Iswari®. Possui ainda uma variada gama de chás biológicos (Clipper®, Yogi Tea® e Pukka®). Todos estes produtos anteriormente referidos possuem o certificado de agricultura biológica.

Para além destes, também aumenta a procura por produtos biodegradáveis, ou seja, ecológicos, uma vez que as pessoas estão cada vez mais consciencializadas para as questões ambientais. A substituição de escovas dos dentes de plástico por escovas de bambu é uma das várias medidas importantes de adotar de forma a contribuir para um meio ambiente mais sustentável, a FN acompanha essa tendência, respondendo à procura destes produtos. Possui também outros produtos ecológicos como elixires e champôs sólidos.

Considero o aumento da procura destes produtos como uma oportunidade para o mercado farmacêutico, em concreto para a FN pois possui uma vasta oferta, acompanhando esta procura, alargando assim a área de atuação farmacêutica. Constitui também, a meu ver, uma oportunidade do meu estágio curricular pois permitiu-me adquirir novos conhecimentos nesta área, úteis na minha atividade profissional futura.

Ascensão da área da fitoterapia

A suplementação alimentar e a alimentação à base de produtos naturais têm aumentado significativamente nas últimas décadas. Com o aumento do consumo destes, aumenta também o risco de interação destes produtos com fármacos tomados, especialmente no que diz respeito a medicação crónica.¹³ Durante o contato com os utentes, através do atendimento, observei que um número elevado destes recorre a produtos à base de plantas, resultante ou não de aconselhamento por diferentes profissionais. Não referem a sua utilização aos médicos e a outros profissionais de saúde, não estando cientes das possíveis interações e contraindicações dos mesmos, pois vêm, muitas vezes, estes produtos como inócuos para a saúde.

A portaria 97/2018 tem presente a importância de as farmácias promoverem campanhas e programas de literacia em saúde⁵. Desta forma, achei relevante o desenvolvimento de um projeto neste sentido, tendo optado por esta área da fitoterapia de forma a tentar contornar esta situação do uso não controlado. Com esse objetivo, alertei os utentes, através de um *flyer* (Anexo 13), acerca dos perigos da utilização incorreta da fitoterapia e que, para tirarem proveito de todas as propriedades benéficas da mesma,

deveriam recorrer apenas a produtos controlados e aconselhem-se juntamente dos seus profissionais de saúde.

Proximidade com a população

O farmacêutico comunitário está diariamente em contacto com a população, sendo, para além de especialista do medicamento, um agente de saúde pública¹⁴. Muitas das vezes, este é o primeiro a quem os utentes recorrem, confidenciando mesmo determinados aspetos que escondem dos médicos. Como referido anteriormente, durante o atendimento deve ser analisada cada situação individualmente e prestado o melhor aconselhamento farmacológico e não farmacológico (Anexo 14). Para além do aconselhamento deve ser assegurada a sua efetividade, indicando a necessidade de seguir as orientações clínicas. Para isso, de forma a melhorar a adesão à terapêutica, devem ser adotadas estratégias como, por exemplo, a redução da incidência de efeitos secundários (exemplo: alertar para tomar metformina após as refeições de forma a evitar distúrbios gastrointestinais).

Tirando partido desta proximidade com a população o farmacêutico pode atuar a vários níveis, com o objetivo da promoção da saúde e bem-estar, através de, por exemplo, os programas de literacia em saúde supramencionados. Estes podem ser alargados ao ambiente externo à farmácia como a escolas, inculcando assim, desde cedo, a importância da adoção de estilos de vida saudável. Neste sentido, a FN, na pessoa da Diretora Técnica, Dra. Alexandra Soares, efetuou uma apresentação numa escola do 1º ciclo acerca da proteção solar, na qual eu colaborei. Esta estava no programa de ateliers educativos “Vila Saúda” da ANF, tendo levado a um grande envolvimento por parte dos alunos (Anexo 15).

3.2.4. Ameaças

Facilidade de acesso a fontes de informação pouco fiável

Atualmente as pessoas têm cada vez mais acessibilidade a fontes de informação, sobretudo através da internet. No entanto, estas informações, num número muito elevado de vezes, não são fiáveis. Daqui resulta um aumento da automedicação, muitas vezes desadequada às circunstâncias. Como exemplo, uma utente com uma candidíase vaginal, a quem foi prescrita pelo médico um tratamento farmacológico com fluconazol, dirigiu-se à farmácia e solicitou o Diflucan® para mais uma semana de tratamento, pois leu na internet que para ser eficaz deveria aumentar o tempo de tratamento de 7 para 14 dias. Não lhe cedi o medicamento, sendo este

um MSRM, explicando que deveria seguir as recomendações farmacológicas do médico e aconselhei-lhe um produto de higiene íntima e uma nova consulta médica, caso os sintomas permanecessem.

Refiro este ponto como uma ameaça pois o acesso a esta informação leva a uma descredibilização da profissão farmacêutica e a uma insistência por parte dos utentes na utilização incorreta dos medicamentos. Desta forma, é de elevada importância o aconselhamento farmacêutico correto, tentando sempre perceber o que motiva as pessoas a quererem utilizar um medicamento, mesmo que se trate de MNSRM, de forma a evitar a utilização inapropriada dos mesmos.

Existência de inúmeros locais de venda de MNSRM, dermocosmética e suplementos alimentares

O Decreto-Lei nº 134/2005, de 16 de agosto, veio possibilitar a venda de MNSRM fora das farmácias¹⁵. A Farmácia Normal tem na proximidade dois destes locais, uma Wells no Continente e um recente espaço BemEstar no Pingo Doce. A existência destes espaços num perímetro próximo estabelece concorrência à FN uma vez que para além de MNSRM, vendem determinados produtos como de dermocosmética, alimentação infantil e suplementos alimentares; muitas vezes a melhores preços, decorrentes da compra em grandes volumes dos mesmos.

Desta forma, vejo a existência destes espaços como uma ameaça não só às farmácias como à própria profissão farmacêutica, decorrente da existência de funcionários, na maioria das vezes, não qualificados. Considero ainda que o fácil acesso a MNSRM e a suplementos alimentares nestes locais transmite à população a ideia errada da sua inocuidade. A carência de um correto aconselhamento poderá, desta forma, acarretar riscos para a saúde.

Medicamentos esgotados

Durante os 4 meses do meu estágio houve vários produtos esgotados, sendo alguns usados por um largo número de utentes, como a Aspirina GR® 100 mg e o Lasix®. A falta destes produtos na farmácia leva a uma necessidade de gestão dos existentes, no entanto, nem sempre esta gestão é suficiente para responder às necessidades dos utentes. No caso da existência de genérico ou outra marca alternativa é explicado ao utente a situação e incitada a troca por estes, havendo uma enorme resistência a esta troca. Torna-se ainda mais

complexas as situações em que não existem alternativas terapêuticas disponíveis, sendo encaminhado o utente para o médico. Esta condição leva a um descontentamento da população com as farmácias em geral e a uma procura destes produtos em várias farmácias para além da habitual.

3.3. Conclusão

O estágio curricular em Farmácia Comunitária possibilitou-me, de igual forma ao realizado em Farmácia Hospitalar, a aplicação dos conhecimentos teóricos e teórico-práticos adquiridos anteriormente. Através da realização e colaboração nas variadas tarefas constatei que o farmacêutico, para além de ter um papel ativo no atendimento dos utentes, desempenha diversas funções do *back office* de elevada importância.

Desde o primeiro dia, toda a equipa da Farmácia Normal me acolheu da melhor forma e dedicou-se ao meu estágio, transmitindo-me o espírito de companheirismo e entreaajuda. A Farmácia Normal foi sem dúvida uma ótima escolha, primando pela conquista da confiança dos utentes, através da dedicação aos mesmos. Esta dedicação é acompanhada de competência profissional, através de uma formação contínua e de contante atualização científica. Encontro-me assim consciente e motivada a manter uma aprendizagem incessante ao longo de toda a vida profissional.

4. Referências Bibliográficas

4.1. Referências Bibliográficas do Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar – IPO Porto

1 - IPOFG, E.P.E. - **Regulamento interno**. 2013. [Acedido a 19 de janeiro de 2019]. Disponível na Internet: <https://www.ipoportofarmacia.pt/dev/wp-content/uploads/2017/08/Regulamento-Interno-Homologado2.pdf>

2 - ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Manual de Boas Práticas de Farmácia Hospitalar**. OF: Conselho do Colégio de Especialidade de Farmácia Hospitalar, 2018. [Acedido a 19 de janeiro de 2019]. Disponível na Internet: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/publicacoes/mbpfbh_capitulo_i_vfinal_17815111995a8eee5ad0c17.pdf

3 - IPO-PORTO - **Distribuição Tradicional**. IPO Porto: Serviços Farmacêuticos. [Acedido a 14 de fevereiro de 2019]. Disponível na Internet: <http://sfipoporto.blogspot.pt>

4 - MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Manual da Farmácia Hospitalar**. Ministério da Saúde: Conselho Executivo da Farmácia Hospitalar, 2005. [Acedido a 14 de fevereiro de 2019]. Disponível na Internet: www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/PUBLICACOES/TEMATICOS/MANUAL_FARMACIA_HOSPITALAR

5 - ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Manual de Preparação de Citotóxicos**. OF: Conselho do Colégio da Especialidade de Farmácia Hospitalar, 2013. [Acedido a 14 de fevereiro de 2019]. Disponível na Internet: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/publicacoes/manual_citotoxicos_16297557285941255f09f07.pdf

6 - DESPACHO CONJUNTO n° 1051/2000, de 14 de setembro. Diário da República n° 251/2000 – II Série. (30 de outubro de 2000) 17584 - 17585. Ministérios da Defesa Nacional e da Saúde.

7 - DESPACHO n° 9825/98, de 13 de maio. Diário da República n° 133/1998 – II Série. (9 de junho de 1998) Ministério da Saúde.

8 - DESPACHO n° 10/96, de 16 de maio. Diário da República n° 135/96 – II Série. (12 de junho de 1996) Ministério da Saúde.

9 - DESPACHO n° 1569/2018, de 7 de fevereiro. Diário da República n° 32/2018 – II Série C. (14 de fevereiro de 2018) 4973. Gabinetes do Secretário de Estado Adjunto e da Saúde e da Secretária de Estado da Saúde.

- 10 - VARGESSON, N. - **Thalidomide-induced teratogenesis: History and Mechanisms.** *Birth Defects Res C Embryo Today.* 105, 2 (2015) 140-156.
- 11 - PANNIKAR, V. - **The Return of Thalidomide: New Uses and Renewed Concerns.** *Lepr Rev.* 74, 3 (2003) 286-288.
- 12 - LEI n° 8/2019, de 1 de fevereiro e versões anteriores. Diário da República n° 23/2019. I Série. (1 de fevereiro de 2019) 780-785. Assembleia da República.
- 13 - INFARMED I.P. - GABINETE JURÍDICO E CONTENCIOSO - Portaria n° 981/98, de 8 de junho. Legislação Farmacêutica Compilada. 1998.
- 14 - MORRISSEY, K.M.; YURASZECK, T.M.; LI, C.C.; ZHANG, Y.; KASICHAYANULA, S. - **Immunotherapy and Novel Combinations in Oncology: Current Landscape, Challenges, and Opportunities.** *Clin Transl Sci.* 9, 2 (2016) 89–104.
- 15 - KAVECANSKY, J.; PAVLICK, A.C. - **Beyond checkpoint inhibitors: the next generation of immunotherapy in oncology.** *AJHO.* 13, 2 (2017) 9-20.
- 16 - EUROPEAN ASSOCIATION OF NUCLEAR MEDICINE (EANM) -**The radiopharmacy- a technologist’s guide.** EANM: Technologist Committee and Technologist Education Subcommittee, 2008. [Acedido a 14 de fevereiro de 2019]. Disponível na Internet: https://www.eanm.org/content-eanm/uploads/2016/11/tech_radiopharmacy.pdf
- 17 - SHARMA, P.; MUKHERJEE, A. - **Newer positron emission tomography radiopharmaceuticals for radiotherapy planning: an overview.** *Ann Transl Med.* ISSN 2305-5839. 4, 3 (2016) 53.
- 18 - LUSTOSA, P.; SOUSA, S.; XAVIER, M.; BORGES, J.C. - **Recognition of the pharmacist in a hospital: a perspective held with inpatients at the Regional Hospital of GurupitO.** *Revista Amazonia Science & Health.* 2, 4 (2014)17-23.

4.2. Referências Bibliográficas do Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária - Farmácia Normal

- 1 - ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária**. 3ª edição. OF: Conselho Nacional da Qualidade, 2009. [Acedido a 23 de maio de 2019]. Disponível na Internet: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/boas_praticas_farmaceuticas_para_a_farmacia_comunitaria_2009_20853220715ab14785a01e8.pdf
- 2 - DECRETO-LEI n.º 15/93, de 22 de janeiro. Diário da República n.º18/1993 - I Série A. (22 de janeiro de 1993) 234-252. Ministério da Justiça.
- 3 - Fabián, C.; Serra J.C. - **Merchandising de gestión: Espacio y animación**. *Farmacia profesional*. 18, 10 (2004) 26-32.
- 4 - LEI n.º 8/2019, de 1 de fevereiro e versões anteriores. Diário da República n.º 23/2019. I Série. (1 de fevereiro de 2019) 780-785. Assembleia da República.
- 5 - PORTARIA n.º 224/2015, de 37 de julho. Diário da República n.º144/2015. I Série. (27 de julho de 2015) 5037-5043. Ministério da Saúde.
- 6 - PORTARIA n.º 1429/2007, de 2 de novembro. Diário da República n.º211/2007. I Série (2 de novembro de 2007) 7993. Ministério da Saúde.
- 7 - PORTARIA n.º 97/2018, de 9 de abril. Diário da República n.º 69/2018. I Série (9 de abril de 2018) 1556-1557. Ministério da Saúde.
- 8 - KYPRIDEMOS, C.; ALLEN, K.; HICKEY, G.L.; GUZMAN-CASTILLO, M.; BANDOSZ, P.; BUCHAN, I.; CAPEWELL, S.; O'FLAHERTY, M. - **Cardiovascular screening to reduce the burden from cardiovascular disease: microsimulation study to quantify policy options**. *BMJ*. 353 (2016) i2793.
- 9 - WŁODARCZAK, U.; SWIECZKOWSKI, D.; RELIGIONI, U.; JAGUSZEWSKI, M.; KRYSINSKI, J.; MERKS, P. - **Awareness of the implementation of the Falsified Medicines Directive among pharmaceutical companies' professionals in the European Economic Area**. *Pharm Pract*. 15, 4 (2017) 1031.
- 10 - DIRETIVA n.º 2011/62/EU do Parlamento Europeu e do Conselho, de 8 de junho. Jornal Oficial da União Europeia, L 174/74 (1 de julho de 2011).
- 11 - DECRETO-LEI n.º 95/2004, de 22 de abril. Diário da República n.º 95/2004 – I Série A. (22 de abril de 2004) 2439-2441. Ministério da Saúde.

- 12 - MIE, A.; ANDERSEN, H.R.; GUNNARSSON, S.; KAHL, J.; KESSE-GUYOT, E.; REMBIAŁKOWSKA, E.; QUAGLIO, G.; GRANDJEAN, P. - **Human health implications of organic food and organic agriculture: a comprehensive review.** *Environ Health.* 16, 1 (2017) 111.
- 13 - CHOI, J.H.; KO, C.M. - **Food and Drug Interactions.** *J Lifestyle Med.* 7, 1 (2017) 1–9.
- 14 - PITA, JR - **A farmácia e o medicamento em Portugal nos últimos 25 anos.** *Debater a Europa.* ISSN 1647-6336. 2/3 (2010) 38-55.
- 15 - DECRETO-LEI nº 134/2005, de 16 de agosto. Diário da República nº 156/2005 – I Série A. (16 de agosto de 2005) 4763-4765. Ministério da Saúde.
- 16 - Anexo 14: SHECHTER, A.; KIM, E.W.; ST-ONGE, M.P.; WESTWOOD, A.J. - **Blocking nocturnal blue light for insomnia: A randomized controlled trial.** *J Psychiatr Res.* 96 (2018) 196-202.

5. Anexos


Anexo I | Comunicação farmacêutico - médico

23/01/2019- Senhor Y, dirige-se à farmácia de ambulatório e apresenta a prescrição para levantamento de bicalutamida. Durante o atendimento refere que ainda possui 2 caixas do fármaco em casa; o farmacêutico observa que a última vez que o doente levantou medicação tinha sido em abril de 2018 e que tinha levado apenas 2 caixas. Visto isto o farmacêutico questiona o doente acerca da aquisição da medicação e ele refere que não a comprou fora do hospital; o farmacêutico informa o médico do sucedido.

Anexo 2| Cedência de Medicamentos Hemoderivados

a) Via Farmácia

Número de série 2061227 VIA FARMÁCIA



MINISTÉRIO DA SAÚDE

MEDICAMENTOS HEMODERIVADOS
REQUISIÇÃO/DISTRIBUIÇÃO/ADMINISTRAÇÃO
(Arquivar pelos Serviços Farmacêuticos¹⁾)

HOSPITAL _____
SERVIÇO _____

Médico _____ <i>(Nome legível)</i>	Identificação do doente <i>(nome, n.º de identificação civil, n.º do processo, n.º de utente do SNS)</i>	QUADRO A
N.º Mec. ou Vinheta _____		
Assinatura _____		
Data ____/____/____		

Apor etiqueta autocolante, citógrafo ou outro. Enviar tantos autocolantes, com identificação do doente, quantas as unidades requisitadas.

REQUISIÇÃO/JUSTIFICAÇÃO CLÍNICA *(a preencher pelo médico)*

Hemoderivado _____ <i>(Nome, forma farmacêutica, via de administração)</i>	QUADRO B
Dose/Frequência _____ Duração do tratamento _____	
Diagnóstico/Justificação Clínica _____	

REGISTO DE DISTRIBUIÇÃO N.º _____ / _____ *(a preencher pelos Serviços Farmacêuticos)*

Hemoderivado/dose	Quantidade	Lote	Lab. origem/Fornecedor	N.º Cert. INFARMED

Enviado ____/____/____ Farmacêutico _____ N.º Mec. _____

(¹) Exceionalmente, o plasma fresco congelado inativado poderá ser distribuído e ter registo e arquivo nos Serviços de Imuno-Hemoterapia.

Recebido ____/____/____ Serviço requisitante *(Assinatura)* _____ N.º Mec. _____

I. Instruções relativas à documentação:

A requisição, constituída por **2 vias (VIA FARMÁCIA e VIA SERVIÇO)**, é enviada aos Serviços Farmacêuticos após preenchimento dos Quadros A e B pelo serviço requisitante. O Quadro C é preenchido pelos Serviços Farmacêuticos.

VIA SERVIÇO – A preencher pelo serviço requisitante e arquivar no processo clínico do doente.

VIA FARMÁCIA – Permanece em arquivo nos Serviços Farmacêuticos. Exceionalmente, a distribuição e registo do plasma fresco congelado inativado, bem como o arquivo da via farmácia, poderá ser feito pelos Serviços de Imuno-Hemoterapia.

II. Instruções relativas ao produto medicamentoso:


- Cada unidade medicamentosa fornecida será etiquetada pelos Serviços Farmacêuticos com as respetivas condições de conservação e identificação do doente e do serviço requisitante;
- Os produtos não administrados no prazo de 24 horas e atendendo às condições de conservação do rótulo serão obrigatoriamente devolvidos aos Serviços Farmacêuticos. No Quadro D será lavrada a devolução, datada e assinada (n.º mecanográfico).

Modelo n.º 1804 (Exclusivo da INCM, S. A.) **INCM**

Despacho n.º 1051/2000 (2.ª série), dos Ministérios da Defesa Nacional e da Saúde, publicado no Diário da República, 2.ª série, n.º 251, de 30 de outubro de 2000.

b) Via Serviço

Número de série 2061227 VIA SERVIÇO



MINISTÉRIO DA SAÚDE

MEDICAMENTOS HEMODERIVADOS
REQUISIÇÃO/DISTRIBUIÇÃO/ADMINISTRAÇÃO
(Arquivar no processo clínico do doente)

HOSPITAL _____
 SERVIÇO _____

Médico _____ <i>(Nome legível)</i> N.º Mec. ou Vinheta _____ Assinatura _____ Data ____/____/____	Identificação do doente <i>(nome, n.º de identificação civil, n.º do processo, n.º de utente do SNS)</i> Apor etiqueta autocolante, citógrafo ou outro. Enviar tantos autocolantes, com identificação do doente, quantas as unidades requisitadas.	QUADRO A
---	---	-----------------

REQUISIÇÃO/JUSTIFICAÇÃO CLÍNICA *(a preencher pelo médico)*

Hemoderivado _____ <i>(Nome, forma farmacêutica, via de administração)</i> Dose/Frequência _____ Duração do tratamento _____ Diagnóstico/Justificação Clínica _____ _____ _____	QUADRO B
--	-----------------

REGISTO DE DISTRIBUIÇÃO N.º _____ / _____ *(a preencher pelos Serviços Farmacêuticos)*

Hemoderivado/dose	Quantidade	Lote	Lab. origem/Fornecedor	N.º Cert. INFARMED

Enviado ____/____/____ Farmacêutico _____ N.º Mec. _____

() Exceionalmente, o plasma fresco congelado inativado poderá ser distribuído e ter registo e arquivo nos Serviços de Imuno-Hemoterapia.*

Recebido ____/____/____ Serviço requisitante *(Assinatura)* _____ N.º Mec. _____

REGISTO DE ADMINISTRAÇÃO *(a preencher pelo enfermeiro responsável pela administração^(*))*

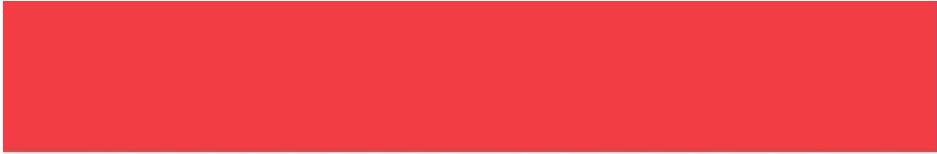
Data	Hemoderivado/dose	Quantidade	Lote/Lab. origem	Assinatura/N.º Mec.

() É responsável pela verificação da conformidade do que regista, com o conteúdo do rótulo do medicamento.*

Os produtos não administrados no prazo de 24 horas e atendendo às condições de conservação do rótulo serão obrigatoriamente devolvidos aos Serviços Farmacêuticos. No quadro D será lavrada a devolução, datada e assinada (n.º mecanográfico).

Modelo n.º 1804 (Exclusivo da INCM, S. A.) **INCM**

Anexo 3| Formulário da prevenção da gravidez da talidomida Celgene®



Thalidomide Celgene® Pregnancy Prevention Programme Prescription Authorisation Form - UK

A newly completed copy of this form MUST accompany every Thalidomide Celgene® prescription. Completion of this form is mandatory for ALL patients and the completed form should be retained in pharmacy for 2 years as it will be required for review during a Thalidomide Celgene® Pregnancy Prevention Programme audit.

Patient Name:																														
Hospital Number:																														
Date of Birth:		DD		MM		YYYY																								
Prescriber Name:																														
Diagnosis:																														

Please tick in the box next to the appropriate patient category, and enter the additional information requested for male and women of childbearing potential patients.

<input type="checkbox"/> Woman of non-childbearing potential						
<input type="checkbox"/> Male						
The patient has been counselled about the teratogenic risk of treatment with Thalidomide Celgene® and understands the need to use a condom if involved in sexual activity with a woman of childbearing potential who is not using an effective method of pregnancy prevention?	Y	N				
Note to Pharmacist: do not dispense unless 'Y'						
<input type="checkbox"/> Woman of childbearing potential						
The patient has been counselled about the teratogenic risk of treatment with Thalidomide Celgene®, the need to avoid pregnancy and has been using an effective method of pregnancy prevention for at least 4 weeks?	Y	N				
Note to Pharmacist: do not dispense unless 'Y'						
Date of last negative pregnancy test:		DD		MM		YYYY
Note to Pharmacist: Do not dispense unless a negative pregnancy test has been conducted within 3 days prior of the prescription date						

Prescriber Confirmation

I have read and understood the Thalidomide Celgene® Healthcare Professional's Information Pack, and confirm that the patient has signed a Treatment Initiation Form.

Prescriber First Name:																															
Prescriber Last Name:																															
Signature:																									Date:		DD		MM		YYYY
Note to pharmacist: the date of the prescription must match the date on this prescription authorisation form.																															

Pharmacy Confirmation

I am satisfied that the Thalidomide Celgene® prescription authorisation form has been completed fully, confirm that dispensing is taking place within 7 days of the prescription date and that I have read and understood the 'Thalidomide Celgene® Healthcare Professional's Information Pack

Pharmacist First Name:																															
Pharmacist Last Name:																															
Signature:																									Date:		DD		MM		YYYY



Anexo 4| Cronograma do período de estágio



Anexo 5| Requisição manual estupefacientes e psicotrópicos

REQUISIÇÃO DE SUBSTÂNCIAS SUAS PREPARAÇÕES COMPREENDIDAS NAS TABELAS I, II, III E IV, COM EXCEÇÃO DA II-A,
ANEXAS AO DECRETO-LEI N.º 1593, DE 22 DE JANEIRO, COM RECTIFICAÇÃO DE 20 DE FEVEREIRO

N.º

Serviços Farmacêuticos
do

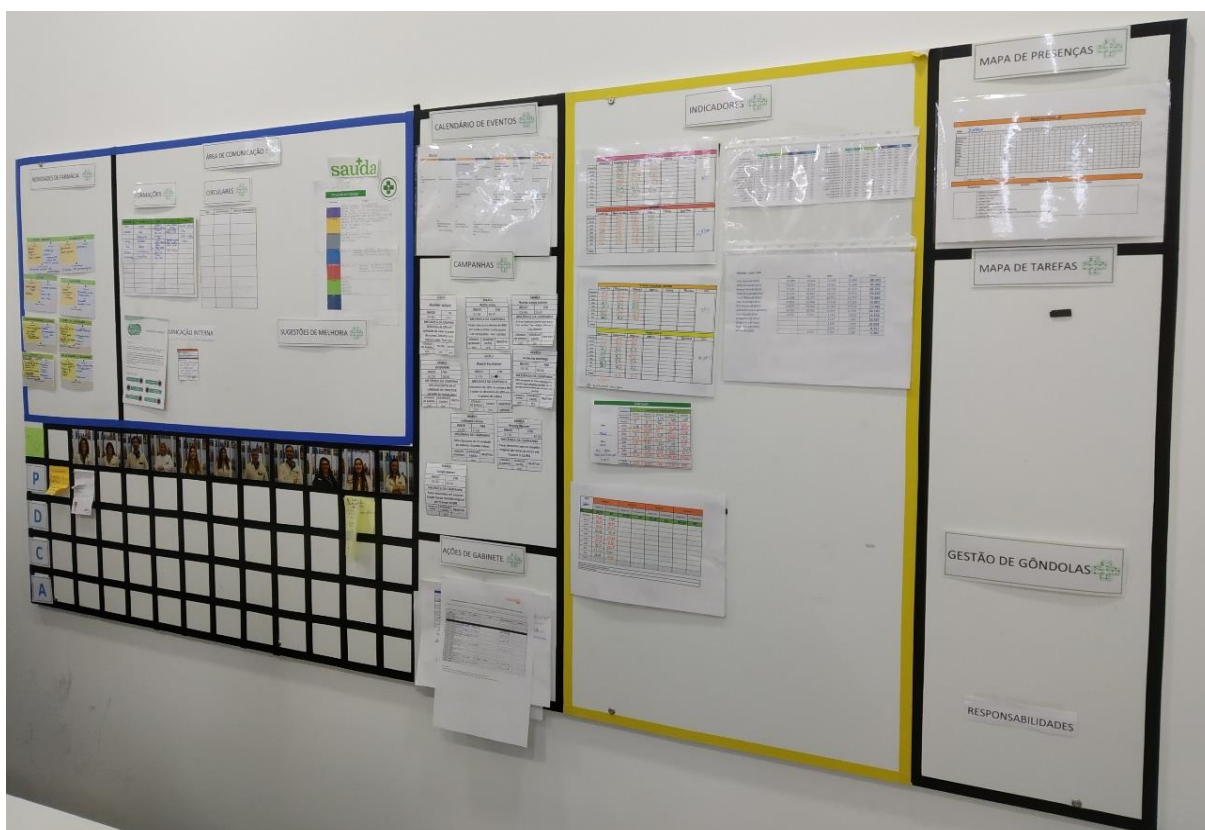
Código
SERVIÇO
SALA

Medicamento (D.C.L.)	Forma Farmacêutica	Dosagem	Código
----------------------	--------------------	---------	--------

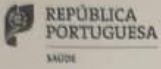

Nome do Doente	Cama/ Processo	Quantidade Pedida Ou Prescrita	Enfermeiro que administra o Medicamento		Quantidade Fornecida	Observações
			Rubrica	Data		
		Total			Total	

Assinatura legível do director de serviço ou legal substituto Data ___/___/___ N.º Mec. _____	Assinatura legível do director do serviço farmacêutico ou legal substituto. Data ___/___/___ N.º Mec. _____	Entregue por (ass. Legível) _____ N.º Mec. _____ Data ___/___/___ Recebido por (ass. Legível) _____ N.º Mec. _____ Data ___/___/___
---	---	--

Anexo 6 | Quadro Kaizen



Anexo 7 | Receita eletrónica desmaterializada- Guia de tratamento

Guia de tratamento da prescrição n.º: * 1 [redacted] *

Data: 2019-05-22

Guia de Tratamento para o Utente
 Não deixe este documento na Farmácia

Utente: [redacted]

Código de Acesso e Dispensa: * [redacted] Código de Opção: ** [redacted]

Local de Prescrição: [redacted]
 Prescritor: [redacted]
 Telefone: [redacted]


DCI /	Nome, dosagem, forma farmacéutica, embalagem, posologia	Quant.	Validade da prescrição	Encargos*
1	Contour Next - Ref.84191389		✓ 2019-11-22	
2	Sitagliptina, [Januvia], 100 mg, Comprimido revestido por película, Blister - 28 unidade(s) <i>1 por dia - almoço</i>	3X	2019-11-22	Este medicamento custa-lhe, no máximo, € 4,40
3	Dapaglifozina, [Forxiga], 10 mg, Comprimido revestido por película, Blister - 28 unidade(s) <i>1 ao jantar</i>	3	✓ 2019-11-22	Este medicamento custa-lhe, no máximo, € 4,50

*Os preços são válidos à data da prescrição. Para verificar se houve alterações nos preços dos medicamentos:


- Consulte «Pesquisa Medicamento» em www.infarmed.pt ou «Poupe na Receita» no seu telemóvel
- Contacte a Linha do Medicamento 800 222 444 (Dias úteis: 09.00-13.00 e 14.00-17.00)
- Fale com o seu médico ou farmacêutico.

Códigos para utilização pela farmácia em caso de falência do sistema informático


1



2



3



Anexo 8| Receita eletrónica materializada

Receita Médica Nº

REPÚBLICA PORTUGUESA 40 SNS

Utente: F [redacted] RN

Telefone: 2 [redacted] 5 [redacted] R.C.:

Entidade Responsável: A.V.A. CHAMPAGNE ARDENNES A.V.A. CHAMPAGNE ARDENNES

Nº de Beneficiário [barcode] MIGRANTE FR

80250000030150914977

[barcode] SCMVC

Especialidade: MEDICINA GERAL E FAMILIAR

Telefone: 2020 [redacted] *U137378*

Rx	DCI / Nome, dosagem, forma farmacêutica, embalagem, posologia	Nº	Extenso	Identificação Ótica
1	Etoricoxib , 90 mg , Comprimido revestido por película , Blister - 20 unidade(s) Posologia - 1 coomp. por dia	2	Duas	[barcode] *50102990*
2	Omeprazol , 20 mg , Cápsula gastrorresistente , Blister - 56 unidade(s) Posologia - 1 caps de manhã em jejum	2	Duas	[barcode] *50008714*
3				
4				

Validade: 30 DIAS





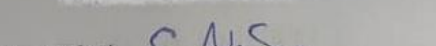
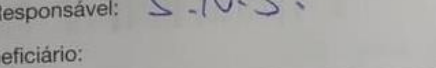
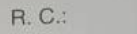

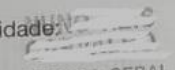

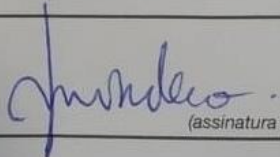
Data: 2019-05-30

[Handwritten Signature]

(Assinatura do Médico Prescritor)

Processado por computador - Gilint® for prescription, versão 6.0 - Gilint®-HS

Anexo 9 | Receita Manual

		Receita Médica N.º 	
Utente:  N.º de Utente:  Telefone:  Entidade Responsável: S.N.S. N.º de Beneficiário: 		R. C.:  RECEITA MANUAL Exceção legal: <input type="checkbox"/> a) Falência informática <input type="checkbox"/> b) Inadaptação do prescriptor <input checked="" type="checkbox"/> c) Prescrição no domicílio <input type="checkbox"/> d) Até 40 receitas/mês	
 Especialidade:  Medicina Geral e Familiar Telefone: 		Vinheta do Local de Prescrição	
R. DCI/Nome, dosagem, forma farmacêutica, embalagem		N.º Extenso	
1 Victam 2mg - cp. cub = 60.		1 mês	
Posologia			
2 Paroxetina 20mg - cp. cub = 60.		2 meses	
Posologia			
3 Ben-u-Ron 1g - cp. cub = 18.		1 mês	
Posologia			
4 _____			
Posologia			
Validade: 30 dias Data: 2019, 05, 26 (aaaa/mm/dd)		 (assinatura do Médico prescriptor)	

Modelo n.º 1806 (Exclusivo da INCM, S.A.) INCM

Anexo I 0 | Caso prático 1

Uma utente, com cerca de 30 anos, aborda-me mostrando a pálpebra de um olho e a parte dorsal de uma das mãos a descamar e refere ter prurido. Refere ainda já ter tido “crises” em outras zonas e ter a pele sempre muito seca. Quando questionada, afirmou não ter diagnóstico prévio de dermatite atópica. Para as pálpebras irritadas aconselhei-lhe um creme suavizante e reparador, atuando também no alívio do prurido, o Topialyse creme palpebral da SVR®. Já para a mão, recomendei um bálsamo com ação relipidante e anti-puriginosa, o SVR® Topialyse Baume Intensif. Expliquei-lhe a importância da utilização diária de produtos de lavagem e hidratação adequados ao tipo de pele, sem sabão e sem perfume, durante todo o ano. Sugeri a utilização do produto que levava, o Topialyse Baume intensif como hidratante corporal pois, para além de aliviar as crises, evita as recidivas que refere ter em zonas diversas do corpo. Para aliviar o desconforto provocado em situações de crise aconselhei-a também a usar compressas de água fria ou água termal posta no frigorífico. Expliquei-lhe que não se devia coçar e que no fim do banho devia secar a pele com toques leves sem esfregar para não reativar o prurido. Alertei-a que se os sintomas não aliviassem no período de uma semana deveria dirigir-se ao médico.

Anexo I 1 | Caso prático 2

Um senhor, com cerca de 70 anos, queixa-se de dores ao mexer um ombro referindo ter “dado um jeito ao abrir o portão”. Após questionar o mesmo acerca da duração dos sintomas este refere ter sentido dor há 2 dias, desde que fez o esforço. O passo seguinte passou por perguntar ao senhor se tinha alguma patologia e se estava a tomar alguma medicação ao que o qual respondeu que só estava a tomar “algo para a tensão, outra coisa para o colesterol e um comprimido para o sangue ficar mais fino”. Neste sentido, decorrendo da toma de um possível anticoagulante, a utilização de anti-inflamatórios orais está contraindicada pelo que a recomendação passou por Ellás® creme, com atividade anti-inflamatória decorrente da raiz de *Symphytum officinale*. Aconselhei o senhor a evitar esforços nos próximos dias, fazendo repouso e tomando um analgésico (paracetamol) em SOS se sentisse muita dor e, caso não sentisse melhoras nos dias seguintes deveria consultar o médico.

Anexo 12| Código Data Matrix



Consulte o seu médico ou farmacêutico!

Opte sempre por consultar um profissional de saúde qualificado, este pode:

- ✓ Recomendar-lhe produtos fitoterapêuticos com base em evidências científicas
- ✓ Indicar-lhe quais os produtos que garantem qualidade, desde a seleção das matérias-primas ao produto final
- ✓ Fornecer dados acerca das contra-indicações e possíveis interações

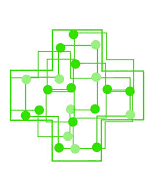


Fitoterapia

Atualmente as medicinas alternativas são uma área em enorme expansão, sendo a fitoterapia uma vertente das mesmas.



Estagiária Daniela Costa



Farmácia Normal



FFUC FACULDADE DE FARMÁCIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

A OMS estima que 80% da população mundial recorre à fitoterapia.¹

- ✓ Existência de inúmeros fármacos vegetais e derivados, com diversas utilizações
- ✓ Elevado conhecimento químico, farmacológico e clínico destes
- ✓ Baixa toxicidade, se usados apropriadamente
- ✓ Melhor adesão em relação à terapêutica convencional
- ✓ Atua em vários alvos, permitindo muitas vezes obter eficácia a baixas doses
- ✓ Aumento do controlo de qualidade
- ✓ Aumento da produção destes em laboratórios especializados, garantindo eficácia, qualidade e segurança






Stress mental, distúrbios do sono e do humor

- ✓ Hipericão 
- ✓ Valeriana 
- ✓ Passiflora 


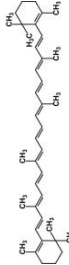


Obstipação

- ✓ Sene 
- ✓ Cáscara Sagrada 
- ✓ Amieiro Negro 



Preparação da pele para o sol e potenciação do bronzado

- ✓ β-caroteno 
- ✓ Licopeno 



Gripes e Constipações

- ✓ Equinácea 

b) verso flyer informativo

A utilização de produtos fitoterapêuticos não controlados pode ser perigosa²:

- ⚠ Utilização de espécies erradas de plantas;
- ⚠ Contaminação por compostos tóxicos;
- ⚠ Sobredosagens
- ⚠ Interações com a medicação habitual (tanto bloqueando a sua ação como aumentando a sua potência)



Exemplos:

O Hipericão (*Hypericum perforatum*) diminui a eficácia de inúmeros medicamentos (contracetivos orais, antirretrovirais, imunossuppressores etc.)

O uso prolongado de sene (*Cassia angustifolia*) pode reduzir a absorção de fármacos administrados pela via oral.

Visto isto ...  (Ver verso)

1- WHO. WHO Global Atlas of Traditional, Complementary and Alternative Medicine. 2 vol. World Health Organization, Geneva, 2005

2-Ekor M. The growing use of herbal medicines: Issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. Front. Pharmacol. 2014; 4:177.

Anexo 14| Caso prático 3

Uma senhora, com cerca de 50 anos, dirige-se à farmácia e solicita uma embalagem de Lorenin® 1mg. Quando questionada acerca da receita médica esta refere não a possuir, indicando que já tinha tomado há uns anos atrás quando andou mais ansiosa, tendo o médico lhe receitado nessa altura para a ajudar a dormir. Após explicar que a substância solicitada, o lorazepam, é uma substância controlada, devido aos riscos que acarreta quando mal utilizada, como o risco de dependência, perguntei à doente os sintomas e a sua duração. Esta referiu que ultimamente tinha tido dificuldades em adormecer e que acordava muitas vezes ao longo da noite, associando isso a um período de maior *stress* no seu emprego. Aconselhei-lhe a toma de 1 comprimido de Alquilea Sono® 30 minutos antes de se deitar, explicando que este produto iria não só a ajudar a adormecer mais rápido, por possuir 1 mg de melatonina como a iria fazer dormir mais horas seguidas, devido à associação de valeriana, passiflora e papoila da califórnia. Expliquei-lhe também a importância de, principalmente à noite, minimizar a exposição à luz azul, proveniente de computadores, televisões, *smartphones* e *tablets*, devido à interferência desta no ciclo circadiano.¹⁶ Elucidei-a acerca da importância da adoção de outras medidas não farmacológicas como limitar o consumo de cafeína, álcool e outras substâncias estimulantes assim como praticar exercício físico e atividades que a abstraíam do trabalho.

Anexo 15| Intervenção farmacêutica na comunidade escolar



PARTE II

“SÍNDROME DE DOWN – ESTRATÉGIAS
TERAPÊUTICAS PARA DIMINUIÇÃO DOS DÉFICES
COGNITIVOS”

Lista de Abreviaturas/Siglas

5-HT1A – Do inglês, *5-hydroxytryptamine 1A receptor*

AAV – Do inglês, *Adeno-Associated Virus*

AD – Do inglês, *Alzheimer Disease*

ADHD – Do inglês, *Attention Deficit Hyperactivity Disorder*

AICD – Do inglês, *Amyloid Precursor Protein Intracellular Domain*

ALGERNON – Do inglês, *Altered Generation of Neurons*

APP – Do inglês, *Amyloid Precursor Protein*

BBB – Do inglês, *Blood Brain Barrier*

BDNF – Do inglês, *Brain Derived Neurotrophic Factor*

BFCN – Do inglês, *Basal Forebrain Cholinergic Neurons*

cDNA – Do inglês, *complementary DNA*

cfDNA – Do inglês, *cell free DNA*

CFH – Do inglês, *Complement Factor H*

CNS – Do inglês, *Central Nervous System*

CoQ10 – Do inglês, *Coenzyme Q10*

CRIPR/Cas9 – Do inglês, *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/ CRISPR associated protein 9*

CSA – Do inglês, *Cyclosporine A*

CVS – Do inglês, *Chorionic Villus Sampling*

DNA – Do inglês, *Deoxyribonucleic Acid*

dox – Do inglês, *doxycycline*

DS – Do inglês, *Down Syndrome*

DSCRI – Do inglês, *Down Syndrome candidate region-1*

DYRK1A – Do inglês, *Dual-Specificity Tyrosine-(Y)-Phosphorylation- Regulated Kinase 1A*

EGCG – Do inglês, *Epigallocatechin-3-gallate*

FISH – Do inglês, *Fluorescence In Situ Hybridization*

GABA – Do inglês, *Gamma AminoButyric Acid*

GCV – Do inglês, *Ganciclovir*

HSA21 – Do inglês, *Homo Sapiens Autosome 21*

IgG4 – Do inglês, *Immunoglobulin G4*

iPSCs – Do inglês, *induced Pluripotent Stem Cells*

IQ – Do inglês, *Intelectual Disability*

IRES – Do inglês, *Internal ribosome entry site*

LTP – Do inglês, *Long Term Potentiation*

miRNA – Do inglês, *microRNA*

MMU10/ MMU16/ MMU17 – Do inglês, *Mus Musculus Chromosome 10/16/17*

mRNA – Do inglês, *messenger RNA*

NDJ – Do inglês, *Non-Disjunction*

NEO – Do inglês, *Neomycin*

NFATc – Do inglês, *Nuclear Factor of Activated T Cell Cytoplasmic*

NIPT – Do inglês, *Non-Invasive Prenatal Test*

NMDA – Do inglês, *N-methyl-D-aspartate*

NPCs – Do inglês, *Neural Progenitor Cells*

NRSF – Do inglês, *Neuron-Restrictive Silencer Factor*

NSCs – Do inglês, *Neural Stem Cells*

NT – Do inglês, *Nuchal Translucency*

PTCHI – Do inglês, *Patched I Homolog I*

PTX – Do inglês, *Picrotoxin*

PTZ – Do inglês, *Pentylentetrazol*

RNA – Do inglês, *Ribonucleic Acid*

ROS – Do inglês, *Reactive Oxygen Species*

SHH – Do inglês, *Sonic Hedgehog*

shRNA – Do inglês, *short hairpin Ribonucleic Acid*

SOD1 – Do inglês, *Superoxide Dismutase I*

TK – Do inglês, *Thymidine Kinase*

TKNEO – *Thymidine Kinase and Neomycin*

XIST – Do inglês, *X Inactive Specific Transcript*

ZFN – Do inglês, *Zinc Finger Nuclease*

I. Introdução

O Síndrome de Down (DS) foi pela primeira vez descrito em 1866, pelo médico inglês John Langdon Down. No entanto, apenas foi associado ao cromossoma humano 21 (HSA21) quase um século mais tarde, pelo pediatra e geneticista francês Jérôme Lejeune (KUMAR DEY e GHOSH, 2011; PAPAVALASSIOLIOU *et al.*, 2014). Esta anomalia genética resulta da presença de uma trissomia total ou parcial do HSA21, o que leva a um desequilíbrio na expressão dos genes inerentes a este cromossoma (KAZEMI *et al.*, 2016). A presente aneuploidia é caracterizada por uma significativa variabilidade fenotípica, ainda que os mecanismos subjacentes a esta variabilidade não sejam totalmente conhecidos (ALEXANDROV *et al.*, 2017; HART *et al.*, 2017). Os défices cognitivos representam a característica fenotípica mais debilitante (BARTESAGHI *et al.*, 2011).

A esperança média de vida dos portadores de DS aumentou significativamente nas últimas décadas, devido aos avanços em termos de cuidados médicos e sociais; atualmente a maioria destes atinge os 70 anos de idade. Com isto, aumenta também, nesta população, a prevalência de condições patológicas associadas ao envelhecimento, como a demência (CARACI *et al.*, 2017). O DS implica elevados custos de saúde e socioeconómicos, não existindo tratamentos efetivos para esta doença neurogenética humana com sintomas complexos e permanentes (UNDERWOOD, 2014; ALEXANDROV *et al.*, 2017).

Atualmente, após grandes avanços científicos nesta área, sabe-se que é possível o desenvolvimento de estratégias terapêuticas para o Síndrome de Down, nomeadamente a nível da restauração dos défices cognitivos. Foram descobertos vários genes envolvidos na fisiopatologia do DS, através da criação de diferentes modelos de doença, permitindo atuar ao nível destes genes alvo (KAZEMI *et al.*, 2016). Existem inúmeras estratégias terapêuticas em fase de estudos pré-clínicos e clínicos, desde terapias farmacológicas, suplementação alimentar, imunoterapia e terapia génica.

2. Síndrome de Down – Da abordagem genética à fisiopatologia

O genoma humano é constituído por 23 pares de cromossomas, 22 pares são compostos por cromossomas autossómicos e 1 par é composto por dois cromossomas sexuais (XX ou XY), determinando estes últimos o sexo do indivíduo (EGGERMANN e SCHWANITZ, 2011). O Síndrome de Down resulta, na maioria dos casos, da existência de

uma terceira cópia do cromossoma 21 (Fig. 1), sendo por isso também denominado por trissomia 21 (FEKI e HIBAOUI, 2018). Esta trissomia tem origem maioritariamente na não disjunção (NDJ) do HSA21 durante a meiose da gametogénese parenteral. A probabilidade deste erro genético ocorrer na oogénese é cerca de 90%, sendo que apenas uma pequena percentagem é causada por erros na espermatogénese. A idade avançada da mãe durante a gravidez e a recombinação meiótica alterada foram identificados

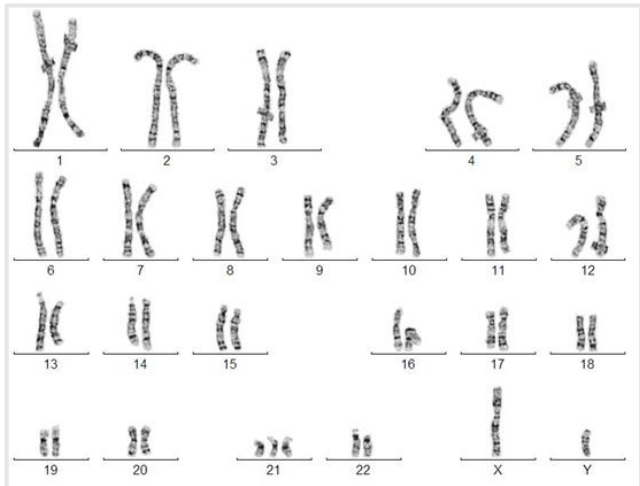


Figura 1 | Cariótipo humano de um indivíduo do sexo masculino com Síndrome de Down

© 2011 Eggermann T, Schwanitz G. Published in *Genetics of Down Syndrome. Genetics and Etiology of Down Syndrome*. Subrata Dey, IntechOpen, under CC BY 3.0 license. Open Access (available from: <http://dx.doi.org/10.5772/117817>)

como os principais fatores envolvidos na NDJ do cromossoma 21 no oócito (KUMAR DEY e GHOSH, 2011). Esta aneuploidia também pode ter como origem, embora num número muito inferior de casos, a translocação ou o mosaicismo. Enquanto os indivíduos com o Síndrome de Down padrão contam com a presença de uma cópia extra do HSA21 em todas as células, aqueles que possuem Síndrome de Down resultante de mosaicismo têm apenas algumas células com este cromossoma extra, possuindo as restantes o número normal de cromossomas (PAPAVASSILIOU *et al.*, 2014). A translocação consiste na presença de material genético resultante de uma terceira cópia do cromossoma 21, mas unida a outro cromossoma, normalmente ao 14 ou ao 15 (KAZEMI *et al.*, 2016).

O HSA21 é o cromossoma humano mais pequeno. Estima-se que contenha mais de 400 genes, constituindo aproximadamente 1-1,5% do genoma humano. Este cromossoma é significativamente rico na codificação de proteínas que estão localizadas em estruturas citoesqueléticas, comparado com o restante genoma. Estas proteínas do citoesqueleto são conhecidas pelo seu envolvimento em doenças neurológicas, em particular na doença de Alzheimer (KAZEMI *et al.*, 2016; ANTONARAKIS, 2017).

2.1 Epidemiologia

O Síndrome de Down é a causa genética de deficiência intelectual mais comum, afeta aproximadamente cada 1 em 700 nascimentos vivos em todo o mundo, existindo uma variabilidade nesta prevalência de acordo com a etnia (SHERMAN *et al.*, 2007;

ANTONARAKIS, 2017). Os estudos epidemiológicos desta anomalia cromossómica tiveram início no século XVIII, tendo sido estes indivíduos descritos por atraso mental, baixa estatura e características faciais específicas (SHERMAN *et al.*, 2007).

No continente Europeu a idade média da mãe ao nascimento do primeiro filho tem aumentado, desde a década de 70. Sabendo que a idade materna avançada é o principal fator de risco identificado para o desenvolvimento de trissomia 21, assim para as outras trissomias cromossómicas, será de esperar que também tenha havido um aumento dos casos de trissomia (LOANE *et al.*, 2013). No entanto, este aumento não é linear, variando de país para país, de acordo com questões políticas e éticas, devido ao aumento da prática de diagnóstico pré-natal e, conseqüente, elevado número de terminos da gravidez por anomalia fetal. Este diagnóstico tem permitido, por outro lado, através da deteção precoce, a sobrevivência de fetos com Síndrome de Down que, de outra forma, poderiam ter resultado em abortos espontâneos (LOANE *et al.*, 2013; VACCA *et al.*, 2019).

2.2 Características fenotípicas e fisiopatologia da doença

Existe uma elevada variabilidade no fenótipo de DS a nível genético, biológico, cognitivo e comportamental (HART *et al.*, 2017). As características fenotípicas típicas envolvem défices cognitivos, limitações no comportamento adaptativo, aparecimento precoce da doença de Alzheimer, doença cardíaca congénita, leucemia na infância, hipotiroidismo, anomalias gastrointestinais, envelhecimento precoce, hipotonia, fraqueza muscular, traços faciais característicos (Fig. 2), problemas de visão, e outras anormalidades de desenvolvimento, incluindo atraso no crescimento (KAZEMI *et al.*, 2016; ANTONARAKIS, 2017; CARACI *et al.*, 2017; BRÁS *et al.*, 2018; FEKI e HIBAOUI, 2018; BELKADY *et al.*, 2019). A Perturbação de Hiperatividade com Défice de Atenção (ADHD) é também muito frequente nestes indivíduos, podendo manifestar-se desde muito cedo (BALLARD *et al.*, 2016).



Figura 2 | Traços faciais característicos do Síndrome de Down

A deficiência intelectual, que inclui tanto os défices cognitivos como as alterações a nível do comportamento adaptativo, pode variar de grau leve a profundo (BELKADY *et al.*, 2019). A memória a longo prazo é mais afetada nos portadores desta aneuploidia em comparação com os que possuem outras deficiências intelectuais. Esta pode ser dividida em memória explícita, abrangendo a memória para factos, conceitos, eventos e experiências, e

memória implícita, incluindo a aprendizagem incidental e a memória de habilidades e tarefas. A primeira parece estar seletivamente comprometida em portadores de DS e contribui significativamente para dificuldades na aprendizagem académica. O valor médio do quociente de inteligência (IQ) dos portadores de DS é inferior ao da população em geral, variando de indivíduo para indivíduo consoante o grau de deficiência intelectual. Este valor em indivíduos com DS não é constante, diminui progressivamente com a idade. O comportamento e a componente socio-emocional também têm impacto na aprendizagem destes indivíduos, estes apresentam dificuldades na resolução de problemas sociais e na toma de decisões (HART *et al.*, 2017). As crianças com DS mostram uma aquisição incompleta e atrasada de funções motoras, linguísticas, cognitivas e adaptativas (BARTESAGHI *et al.*, 2011).

A neurogénese consiste na proliferação e diferenciação de células estaminais neuronais em neurónios. Esta tem início no período fetal, no entanto, ocorre também, no hipocampo, no período pós-natal e ao longo de toda a vida, sendo esta última denominada de neurogénese adulta. A neurogénese adulta consiste numa resposta adaptativa, com a função de regular a plasticidade cerebral e a memória (WINNER e WINKLER, 2015; VACCA *et al.*, 2019). Ambas se encontram alteradas no DS, havendo uma menor proliferação de células precursoras neuronais (NPCs), assim como deficiências a nível da neurodiferenciação, levando a distúrbios cognitivos (VACCA *et al.*, 2019). O cérebro destes indivíduos apresenta um volume reduzido, existindo alterações no número e/ou morfologia dos neurónios em várias regiões do cérebro como o córtex frontal, o hipocampo e o cerebelo (FEKI e HIBAOUI, 2018).

O Síndrome de Down é caracterizado pela observação de níveis elevados de *stress* oxidativo a nível cerebral. É feita uma associação entre a elevação acentuada destes níveis e a sobreexpressão do gene superóxido dismutase I (SOD1), localizado no HSA21. A sobreprodução da enzima SOD1, catalisadora da dismutação de superóxido de hidrogénio em oxigénio e peróxido de hidrogénio, leva à acumulação de espécies reativas de oxigénio (ROS) e, conseqüentemente, ao aumento do *stress* oxidativo (BRÁS *et al.*, 2018; VACCA *et al.*, 2019).

Os sistemas de neurotransmissão serotoninérgico, GABAérgico e glutamérgico encontram-se alterados no DS. A serotonina desempenha um papel importante na neurodiferenciação, no desenvolvimento dendrítico e na sinaptogénese; desta forma a presença de níveis reduzidos deste neurotransmissor nos cérebros de fetos com DS está associada a alterações no seu desenvolvimento (BARTESAGHI *et al.*, 2011). O ácido γ -aminobutírico (GABA) é o principal neurotransmissor inibitório em humanos, este está envolvido de forma significativa na cognição e memória (VACCA *et al.*, 2019). O DS é

caracterizado por distúrbios na transmissão GABAérgica, resultando em alterações no equilíbrio das sinapses excitatórias e inibitórias (HART *et al.*, 2017; CONTESTABILE *et al.*, 2017); este desequilíbrio afeta a plasticidade e excitabilidade neuronal (VACCA *et al.*, 2019). Os níveis reduzidos de glutamato, sendo este o neurotransmissor excitatório mais abundante a nível cerebral, levarão a distúrbios na neurotransmissão excitatória (BARTESAGHI *et al.*, 2011).

De entre todos os genes codificados pelo cromossoma humano 21, o DYRK1A, o APP e o DSCRI são aqueles que evidenciam uma maior correlação com o Síndrome de Down (Tabela I). A enzima codificada pelo gene DYRK1A está envolvida no neurodesenvolvimento de várias espécies. A sobreexpressão deste gene mostrou levar a alterações no tamanho cerebral e na densidade neuronal simultaneamente com atrasos no neurodesenvolvimento e défices de aprendizagem e memória. A proteína precursora amiloide (APP) é um componente proeminente da cascata amiloide, sendo que a sua sobreexpressão em cérebros de DS é responsável pelo aparecimento precoce da Doença de Alzheimer (AD), caracterizada por acumulação de placas do peptídeo β -amiloide e, conseqüente, neurotoxicidade (VACCA *et al.*, 2019). A proteína DSCRI atua como um regulador negativo da via de sinalização da calcineurina, através da ativação do fator de transcrição fator nuclear de células T ativadas (NFATc), tendo um papel importante na formação de sinapses e na memória. A sua sobreexpressão a nível cerebral, durante os períodos pré e pós-natal, está relacionada com a alteração da neurotransmissão excitatória observada em DS (BARTESAGHI *et al.*, 2011).

Tabela I | Principais genes do HSA21 envolvidos no Síndrome de Down

Gene	Proteína codificada	Funções	Trissomia	Referências
DYRK1A	<i>Dual-Specificity Tyrosine-(Y)-Phosphorylation-Regulated Kinase 1A</i>	Desenvolvimento neuronal de várias espécies.	Alterações no tamanho cerebral e densidade neuronal. Atrasos no neurodesenvolvimento, défices de aprendizagem e memória.	FEKI e HIBAOU, 2018
APP	<i>Amyloid Precursor Protein</i>	Neuroplasticidade e neurogênese.	Acumulação de placas do peptídeo β - amiloide. Neurotoxicidade.	VACCA <i>et al.</i> , 2019
DSCRI	<i>Down Syndrome Critical Region Gene 1</i>	Regulação negativa da via de sinalização mediada pela calcineurina.	Alteração da neurotransmissão excitatória.	BARTESAGHI <i>et al.</i> , 2011

3. Métodos de rastreio e de diagnóstico pré-natal

O rastreio desta anomalia genética, como rotina, na fase pré-natal, é de elevada relevância (KAZEMI *et al.*, 2016). Após o rastreio, se houver indicação para a realização de um diagnóstico definitivo, a execução de um teste invasivo, utilizando técnicas de citogenética convencional ou citogenética molecular, é sempre necessário. No entanto, estes testes invasivos têm como consequência o aumento do risco de aborto espontâneo (VICIC *et al.*, 2017). O primeiro passo deverá então passar por um teste de rastreio pré-natal não invasivo, de forma a estimar o risco de desenvolvimento de DS, tanto em mães jovens como em mães de idade mais avançada. O rastreio será mais efetivo se associar vários fatores, como a idade materna, marcadores bioquímicos e os resultados do exame ecográfico; sendo este denominado de rastreio combinado do 1º trimestre. Esta associação, para além de aumentar a sensibilidade, diminui também o número de falsos positivos (EGGERMANN e SCHWANITZ, 2011; SHAJPAL *et al.*, 2017). Os indivíduos classificados após o rastreio como sendo de elevado risco, são encaminhados para a realização um teste invasivo. Este envolve a análise do cariótipo ou a utilização da técnica molecular de hibridização fluorescente *in situ* (FISH), usando amostras de células fetais obtidas através da amniocentese, após a 15ª semana, ou amostras das vilosidades coriônicas (CVS), entre a 12ª e a 14ª semanas (RIZOS *et al.*, 2018).

A partir do DNA fetal não celular que se encontra na circulação da mãe e que aumenta ao longo da gestação, é possível rastrear a trissomia 21, entre a 11ª e a 22ª semana de gravidez (SHAJPAL *et al.*, 2017; BAYÓN *et al.*, 2019). A análise molecular de *cell free DNA* (cfDNA) isolado de uma amostra sanguínea materna possui uma elevada sensibilidade e especificidade, podendo usar diferentes técnicas moleculares como os *microarrays*, a sequenciação dirigida e a sequenciação de todo o genoma (CURNOW *et al.*, 2019). A descoberta destes testes de rastreio pré-natal não invasivos usando cfDNA trouxe a vantagem da redução do número de abortos espontâneos resultantes dos procedimentos invasivos (BAYÓN *et al.*, 2019). No entanto, este teste é considerado um teste de rastreio e não de diagnóstico, devido ao elevado número de causas biológicas capazes de originar falsos positivos. Entre elas encontram-se patologias da mãe que elevem a porção materna de cfDNA no plasma ou diminuam a fração fetal, como doenças autoimunes, doenças oncológicas e obesidade. Na prática comum, é então necessário um teste invasivo de confirmação após a obtenção de um resultado positivo neste teste pré-natal não invasivo (NIPT). Apesar da sua elevada eficiência, o rastreio usando cfDNA apresenta elevados custos em contraste com os rastreios do sêrum materno convencionais, sendo o custo o principal obstáculo para este ser usado como um teste de rastreio de primeira

linha. As estratégias de financiamento público diferem consoante os sistemas de governo (KOC *et al.*, 2019). Atualmente, em Portugal estes tipos de testes estão disponíveis, embora possuam custos elevados, não sendo comparticipados pelo Estado. No entanto, em outros países europeus, como a Suíça e o Reino Unido, os mesmos já se encontram integrados nos seus respetivos sistemas nacionais de saúde, sendo realizados em casos de risco aumentado de trissomia fetal (FARIA, 2016; MAXWELL e O'LEARY, 2018).

4. Modelos de estudo do Síndrome de Down

4.1. Modelos Animais: Murganhos

A maioria dos genes do braço longo do HSA21 humano são equivalentes aos encontrados na porção distal do cromossoma 16 murino (MMU16) (Fig. 3), possuindo ainda pequena homologia com algumas regiões de outros dois cromossomas (MMU10 e MMU17) (ANTONARAKIS, 2004). Tendo em conta essas similaridades, foram desenvolvidos modelos de murganhos com DS, como o Ts65Dn e o Ts1Cje. Estes modelos possuem traços fenotípicos de DS, incluindo anomalias cerebrais, plasticidade sináptica alterada e problemas de memória e aprendizagem (CRÉAU, 2012; NAKANO-KOBAYASHI *et al.*, 2017).

O murganho Ts65Dn é provavelmente o melhor caracterizado e o mais usado em estudos pré-clínicos. Este modelo possui uma trissomia de toda região distal do MMU16 (Fig. 3), contendo assim cópias extras de vários genes do HSA21, incluindo o DYRK1A. Desta forma, este modelo possui um aumento da expressão da DYRK1A em várias regiões cerebrais incluindo o cerebelo, o córtex e o hipocampo (FEKI e HIBAOUI, 2018).

Quanto aos modelos resultantes da inserção de uma parte ou de todo o HSA21, a perda aleatória deste fragmento cromossómico durante o desenvolvimento do murganho resulta em diferentes níveis de mosaïcismo do cromossoma extra nos diferentes tecidos.

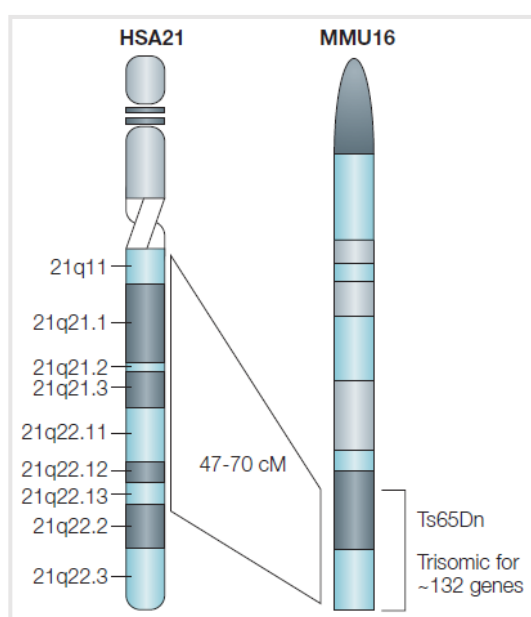


Figura 3| Homologia entre o HSA21 e o MMU16

© 2004 Stylianos E., Antonarakis *et al.* Published in *Nature Reviews Genetics. Chromosome 21 and Down Syndrome: from genomics to pathophysiology.* Springer Nature. License number 4600230165957.

Podem ainda ser usados modelos em que é removida uma cópia de um gene específico de um murganho modelo de DS e são analisados os resultados (BARTESAGHI *et al.*, 2011).

4.1.1. Exemplos de estudos pré-clínicos em murganhos

A literatura é vasta, existindo inúmeros estudos pré-clínicos no âmbito desta anomalia genética, em diferentes modelos murganhos. Desta forma, selecionei como exemplo apenas alguns dos que têm como alvo a proteína DYRK1A, entre os que considerei mais relevantes, sendo que abordarei outras estratégias com diferentes alvos e modelos posteriormente.

A atividade excessiva da proteína DYRK1A mostrou regular negativamente a proliferação das células estaminais neuronais (NPCs) obtidas a partir de modelos animais (NAKANO-KABAYASHI *et al.*, 2017). Neste sentido, os estudos pré-clínicos em murganhos têm tido como principal alvo a normalização da atividade da DYRK1A. Para isso, têm sido adotadas essencialmente duas estratégias diferentes (Tabela II): 1) a redução da síntese proteica de DYRK1A através de abordagens moleculares (*short hairpin RNA* contra a DYRK1A) e 2) a inibição da DYRK1A através de meios farmacológicos (EGCG e ALGERNON) (FEKI e HIBAOU, 2018).

Tabela II | Estratégias terapêuticas tendo como alvo a proteína DYRK1A em fase pré-clínica (modelos murganhos).

Estratégia	Descrição	Resultados	Modelos	Referências
shRNA contra a DYRK1A	<i>Short hairpin RNA</i> contra o mRNA da proteína DYRK1A	Atenuação do comportamento hiperativo. Melhoria sensorial e motora. Melhoria LTP.	TgDyrk1a Ts65Dn	ORTIZ-ABALIA <i>et al.</i> , 2008 ALTAFAJ <i>et al.</i> , 2012
EGCG	<i>Epigallocatechin gallate</i> - Inibição da atividade excessiva da proteína DYRK1A	Restauração do tamanho e volume cerebral. Melhoria da memória a longo prazo.	YACtg152F7	GUEDJ <i>et al.</i> , 2009
ALGERNON	<i>Altered generation of neurons</i> - Inibição da atividade excessiva da proteína DYRK1A sobrepresa.	Restauração da proliferação de células neuronais. Aumento neurogênese no giro dentado. Melhoria do comportamento cognitivo.	Ts1Cje	NANO-KOBAYASHI <i>et al.</i> , 2017

Legenda: ALGERNON- Altered generations of neurons; DYRK1A- Dual Specificity Tyrosine-(Y)-Phosphorylation-Regulated Kinase 1A. EGCG- Epigallocatechin gallate; shRNA- short hairpin RNA; LTP- Long term potentiation

O tratamento com shRNA contra a DYRK1A de um modelo murganho TgDyrk1a resultou na atenuação do seu comportamento hiperativo assim como na melhoria a nível

sensorial e motora. Esta sequência de RNA específica para a DYRK1A foi administrada através de injeções intra-estriatais bilaterais usando vírus adeno-associados (AAV) como vetores, de forma a atingir o sistema nervoso central. Esta terapia génica mostrou normalizar os níveis de proteína DYRK1A, sendo desprovida de toxicidade (ORTIZ-ABALIA *et al.*, 2008). Mais tarde os estudos pré-clínicos foram conduzidos no modelo Ts65Dn, utilizando, de igual forma, os AAV como vetores; esta estratégia levou a uma melhoria na potenciação de longo termo (LTP) e na tigmotaxia inicial embora não mostrasse melhorias no comportamento tigmotáxico tardio (ALTAF AJ *et al.*, 2012).

Quanto às abordagens farmacológicas, diversas moléculas isoladas de fontes naturais foram identificadas como potentes inibidores da atividade da DYRK1A (FEKI e HIBAOU, 2018). Um dos exemplos mais estudados é a epigalocatequina galato (EGCG), isolada a partir do chá verde, tendo atividade inibitória da proteína DYRK1A (NAKANO-KOBAYASHI *et al.*, 2017). Existem vários estudos pré-clínicos para este composto. Dá-se o exemplo do tratamento de murganhos (modelo YACtg152F7), desde a fase gestacional até ao período adulto, com EGCG (0,6-1,0 mg/dia e 1,2 mg/dia) que mostrou restaurar o tamanho e volume cerebral, assim como melhorar a memória a longo prazo (GUEDJ *et al.*, 2009).

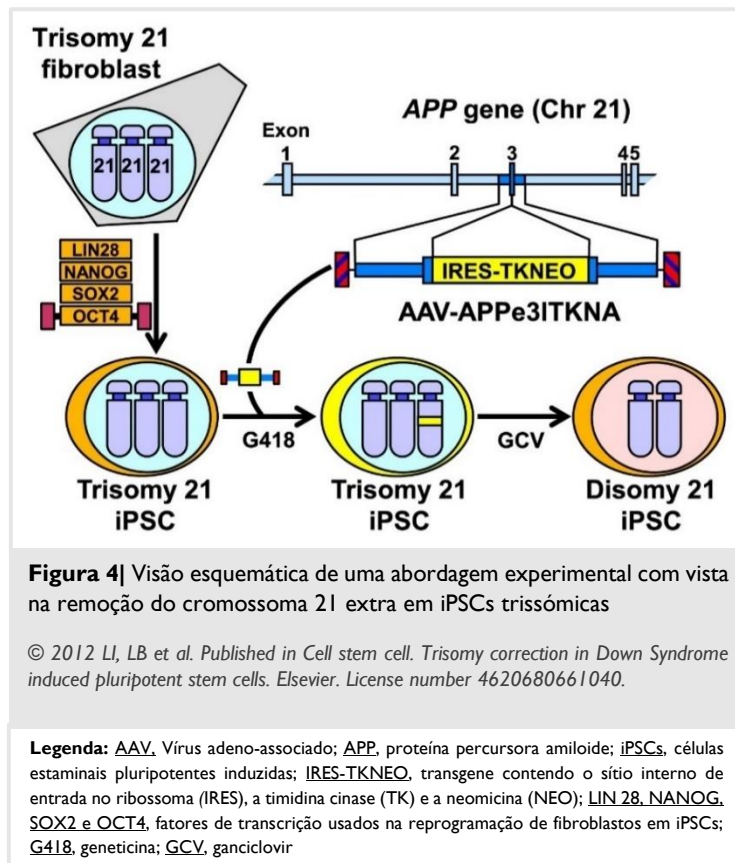
Subsequentemente à descoberta dos compostos provenientes de fontes naturais supracitados foram desenvolvidos, através da química medicinal, novos inibidores da proteína DYRK1A, sendo o *Altered Generation of Neurons* (ALGERNON) o mais promissor (FEKI e HIBAOU, 2018). A molécula ALGERNON foi estudada em murganhos Ts1Cje, tendo sido adicionada à alimentação do murganho fêmea modelo durante a gravidez de forma a avaliar o seu impacto no desenvolvimento dos embriões. Esta administração pré-natal normalizou a espessura da camada cortical dos embriões modelo assim como promoveu a neurogénese no giro dentado destes murganhos. Melhorou também o comportamento cognitivo destes em vários testes realizados. Os resultados sugerem que o ALGERNON promove a neurogénese dentro de 10 dias após a iniciação do tratamento. O ALGERNON demonstrou que equilibrando a atividade da DYRK1A, durante o desenvolvimento embrionário, consegue-se restaurar o desenvolvimento cerebral anormal e, assim, prevenir défices cognitivos em modelos roedores de DS. O ALGERNON aumenta também a neurogénese adulta *in vivo* (NAKANO-KOBAYASHI *et al.*, 2017).

4.2. Modelos em células estaminais pluripotentes induzidas

Como referido anteriormente, existem inúmeros modelos de DS, sendo os principais murganhos; no entanto estes não contam com a presença de variadas especificidades do fenótipo humano (HIBAOUI e FEKI, 2015). Neste campo, a reprogramação de células somáticas de fetos ou indivíduos com DS em células estaminais pluripotentes induzidas (iPSCs) veio oferecer uma estratégia promissora de estudo desta condição genética (LI *et al.*, 2012).

Tirando partido da descoberta que ao longo do tempo de cultura das iPSCs com trissomia do cromossoma 21, obtidas por reprogramação, há o risco de acontecerem aberrações cromossomais, como a perda de uma cópia do HSA21, foram adotadas estratégias de forma a induzir esta eliminação da cópia extra deste cromossoma em iPSCs (HIBAOUI e FEKI, 2015). Uma destas estratégias inclui a inserção do transgene TKNEO, codificante da timidina cinase (TK) e da neomicina (NEO), em uma das três cópias do HSA21 (Fig. 4). Foi escolhido o gene APP como alvo devido à sua localização no braço longo do HSA21 e à sua elevada expressão observada em iPSCs. A associação do sítio interno de entrada no ribossoma ao transgene TKNEO (IRES-TKNEO) foi introduzida no exão 3 do gene APP, por recombinação homóloga, usando vírus adeno-associados (AAV) como vetores. No momento da inserção deste material genético nas iPSCs trissómicas foi adicionado o antibiótico G418 ao meio de cultura, de forma a selecionar as células em que houve inserção do transgene. De seguida foi introduzido no meio de cultura o ganciclovir (GCV), sendo usado como meio seletivo contra a expressão do TKNEO. Assim, de uma forma geral, apenas as células que espontaneamente perderam um dos HSA21 é que têm a capacidade de sobreviver nesta cultura (LI *et al.*, 2012).

Mais tarde, foi descoberto que estas iPSCs podiam ser posteriormente diferenciadas em células neuronais. Observou-se uma neurogénese reduzida quando as iPSCs trissómicas para o HSA21 eram diferenciadas em células neuroprogenitoras (NPCs) e, posteriormente, em neurónios maduros (HIBAOUI e FEKI, 2015). Descobriu-se ainda ser possível a reprogramação direta de células somáticas em neurónios ou células estaminais neuronais, sem passarem pelo estado de pluripotência (Hou e LU, 2016). Estas descobertas científicas impulsionaram a evolução no campo de investigação em neurociências, permitindo a criação de modelos de doença *in vitro* e o *screening* de novos fármacos, sendo atualmente efetuados vários estudos em iPSCs de indivíduos com DS (HIBAOUI e FEKI, 2015).



5. Relação do Síndrome de Down com a doença de Alzheimer

A maioria dos adultos com DS exibe características neuropatológicas típicas da doença de Alzheimer (AD), como defeitos na endocitose e autofagia, conduzindo à acumulação de produtos de degradação celular, disfunção neuronal progressiva e neurodegeneração; embora nem todos eles desenvolvam sintomas clínicos, como demência. Desta forma, é crucial um bom conhecimento da fisiopatologia da doença de Alzheimer para a identificação de potenciais alvos farmacológicos para o DS (CARACI *et al.*, 2017; COLACURCIO *et al.*, 2017).

Nestes indivíduos há, geralmente, um declínio na memória e na função linguística precedendo a demência. No entanto, quando esta ocorre em indivíduos mais jovens (30-40 anos), usualmente manifesta-se por alterações no comportamento e na personalidade, incluindo apatia e aumento de impulsividade (BALLARD *et al.*, 2016). Aproximadamente metade dos indivíduos com DS apresentam demência relacionada com Alzheimer aos 60 anos (HART *et al.*, 2017). Através severidade da incapacidade intelectual, determinada na adolescência, não é passível de prever o desenvolvimento de demência em idade avançada (SAUNA-AHO *et al.*, 2018).

A triplicação do HSA21 leva à triplicação do gene APP e, conseqüente, sobreprodução de proteína β amiloide, sendo que esta sobreprodução está relacionada com o início precoce de traços de AD (RAFII, 2016). Em casos de trissomias parciais, sem triplicação do gene APP, não se observa o aparecimento precoce de características típicas da doença de Alzheimer (COLACURCIO *et al.*, 2017; BRÁS *et al.*, 2018). A clivagem proteolítica da proteína precursora amiloide (APP) sobrepresa, pelas enzimas β - e γ -secretase, conduz à deposição de placas extracelulares de peptídeos beta-amiloides ($A\beta$) (ANTONARAKIS, 2017). Estas placas β -amiloides são características neuropatológicas típicas da doença de Alzheimer observadas no Síndrome de Down, juntamente com emaranhados neurofibrilares e perda de células neuronais (COLACURCIO *et al.*, 2017). O risco de Alzheimer é também aumentado pela sobreexpressão da proteína DYRK1A, que promove diretamente a degeneração neurofibrilar, através da fosforilação da proteína tau e, indiretamente, através da fosforilação do fator de *splicing* alternativo (FEKI e HIBAOU, 2018). A presença crônica de depósitos de proteínas anormais altamente insolúveis, assim como os danos a nível dos tecidos neuronais, constituem um estímulo para a ocorrência de neuroinflamação, sendo esta observada em indivíduos com DS (AKIYAMA *et al.*, 2000; CHIANG *et al.*, 2018).

As terapêuticas atuais para a AD têm como foco apenas o tratamento dos sintomas associados à mesma, como a perda de memória, não tendo nenhum efeito na progressão da doença. Estas terapêuticas incluem inibidores da colinesterase, como o donepezilo e a rivastigmina, e antagonistas dos recetores NMDA, como a memantina. O objetivo será o desenvolvimento de fármacos modificadores de doença, ou seja, capazes de atrasar ou parar o avanço dos processos fisiopatológicos inerentes a esta (CARACI *et al.*, 2017). Nesse sentido foram desenvolvidas novas moléculas como a ELND005 e a ACI-24, que serão posteriormente abordadas em maior detalhe.

6. Alvos terapêuticos para diminuição dos défices cognitivos

Como referido anteriormente, existe uma associação entre os défices cognitivos destes indivíduos e defeitos na neurogênese, que ocorre sobretudo na fase embrionária e pós-natal inicial. Uma vez que o diagnóstico desta anomalia genética pode ser feito durante a gravidez, a terapêutica a instituir, para reverter ao máximo os défices cognitivos, seria potencialmente mais eficaz se administrada precocemente, na fase pré-natal ou pós-natal inicial (NAKANO-KOBAYASHI *et al.*, 2017).

Após o período de proliferação neuronal e maturação pouco poderá ser feito para aumentar a quantidade e qualidade de neurónios. No entanto, mesmo na fase adulta, será possível melhorar os défices cognitivos através de outras estratégias, como a prevenção da neurodegeneração ou a restauração de alterações a nível dos sistemas de neurotransmissão, observadas nos portadores de DS (BARTESAGHI *et al.*, 2011).

De seguida, serão enumerados vários alvos terapêuticos que têm sido propostos, com foco na melhoria cognitiva destes indivíduos. Para além das estratégias que intervêm ao nível da normalização da sobreexpressão do gene DYRK1A, já abordadas anteriormente, serão mencionadas diversas outras estratégias. Estas estão divididas em terapia farmacológica, terapia génica, imunoterapia e suplementação alimentar.

6.1. Terapia farmacológica

6.1.1. A nível dos sistemas de neurotransmissão e dos seus recetores

6.1.1.1. Via glutamérgica

A memantina é um fármaco muito usado na doença de Alzheimer, sendo por isso visto como potencial candidato para o tratamento da demência em indivíduos com Síndrome de Down (BALLARD *et al.*, 2016). O seu mecanismo de ação passa pela melhoria da transmissão glutamérgica, obtida através do bloqueio, de forma não competitiva, dos recetores de N-metil D-aspartato (NMDA); com o objetivo de melhorar as deficiências a nível da memória, comportamento e cognição. Esta via de transmissão encontra-se comprometida em indivíduos com trissomia 21, tendo sido demonstrado tanto em modelos murinhos trissómicos como em amostras *post-mortem* de cérebros humanos de portadores de DS, a existência de níveis reduzidos de glutamato a nível do hipocampo (VACCA *et al.*, 2019). Em estudos pré-clínicos realizados no modelo murinho Ts65Dn, a administração de memantina revelou efeitos positivos na aprendizagem contextual embora não se observasse melhorias na neurodegeneração observada neste mesmo modelo (CARACI *et al.*, 2017). Ensaios clínicos vieram a mostrar que a memantina não possui efeitos clínicos relevantes na aprendizagem e memória em indivíduos com síndrome de Down (BALLARD *et al.*, 2016).

6.1.1.2. Via GABAérgica

Esta via de neurotransmissão mostrou encontrar-se alterada em modelos murinhos de trissomia 21. Dada a evidência do envolvimento do neurotransmissor GABA na

neurofisiologia, cognição e plasticidade sináptica têm sido desenvolvidas várias estratégias farmacológicas tendo como alvo a transmissão GABAérgica (CONTESTABILE *et al.*, 2017). A picrotoxina (PTX) é um antagonista não competitivo dos recetores GABA-A, este fármaco é responsável pela normalização da atividade cerebral (UNDERWOOD, 2014), tendo revelado resultados positivos de melhoria cognitiva em murganhos modelo Ts65Dn. O pentilenotetrazol (PTZ) e o Bilobalide também são exemplos de antagonistas GABA-A, capazes de atravessar a barreira hematoencefálica (BBB), que revelaram de igual forma resultados positivos nos mesmos modelos murganhos. No entanto, todos estes fármacos revelam convulsões como efeitos secundários, sendo necessário um grande controlo de doses em valores não desencadeantes de sintomas epilépticos (FERNANDEZ *et al.*, 2007).

6.1.1.3. Via serotoninérgica

A disfunção a nível do sistema serotoninérgico central e periférico tem sido observada em modelos de DS. A via serotoninérgica desempenha um papel central na neurogénese e no desenvolvimento dendrítico, tendo sido encontrada uma expressão reduzida do recetor de serotonina (5-HT1A) tanto em modelos murganhos Ts65Dn como em indivíduos com DS. Neste sentido, a utilização de inibidores seletivos da recaptção da serotonina tem sido investigada nesta patologia para a restauração dos défices cognitivos (CARACI *et al.*, 2017). Um dos fármacos pertencentes a esta classe é a fluoxetina, amplamente usada como antidepressivo (BARTESAGHI *et al.*, 2011). Foi demonstrado que, além da inibição da recaptção de serotonina, esta também reduz a neurotransmissão GABAérgica no hipocampo, diminuindo os níveis de GABA *in vivo* (VACCA *et al.*, 2019). O efeito terapêutico da fluoxetina em DS poderá assim passar tanto pela redução do 5-HT1A como pela redução do neurotransmissor GABA, tendo mostrado conseguir restaurar a neurogénese em modelos murganhos (CONTESTABILE *et al.*, 2017). No murganho modelo Ts65Dn a fluoxetina restaurou a expressão do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) sugerindo que este é um dos mecanismos pelo qual o tratamento aumenta a sobrevivência e diferenciação celular (BARTESAGHI *et al.*, 2011). Este fármaco foi assim proposto como uma potencial estratégia farmacoterapêutica para melhorar a neurogénese fetal, no entanto, diversos efeitos secundários foram reportados decorrentes de tratamentos de longo termo com esta molécula que poderão limitar a aplicabilidade da mesma ao DS (VACCA *et al.*, 2019).

6.1.2. A nível da neurodegeneração

6.1.2.1 Molécula ELND005

Uma vez que se observam características neuropatológicas típicas da doença de Alzheimer numa grande parte dos indivíduos com DS, uma das estratégias terapêuticas em investigação passa pela utilização dos fármacos inicialmente criados para a AD. A molécula ELND005 consiste no estereoisómero do inositol, anormalidades no metabolismo do mio-inositol contribuem para a demência. Este consegue ligar-se diretamente aos oligómeros A β promovendo a dissociação dos agregados, adicionalmente previne a transição de monómeros A β para oligómeros A β . Assim, o ELND005 mostrou reduzir tanto os níveis amiloides como de mio-inositol. Foram revelados resultados positivos num ensaio clínico de fase II (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01791725) que avaliou a eficácia, segurança e tolerabilidade do ELND005 oral no tratamento da disfunção cognitiva em jovens com DS sem manifestações de demência (RAFI et al., 2017). No entanto, como o estudo foi conduzido apenas ao longo de 4 semanas, são necessários estudos de longo termo adicionais (CARACI et al., 2017).

6.1.2.2 Minociclina

Os indivíduos com DS apresentam uma inflamação crónica, nomeadamente neuroinflamação, contribuindo para a deficiência da função cognitiva (CHIANG et al., 2018). Estes apresentam, a nível cerebral, a microglia ativada e níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, características estas presentes em patologias relacionadas com a AD. Esta ativação da microglia está associada à degeneração de neurónios colinérgicos basais do prosencéfalo (BFCN) e, conseqüente, declínio do número destes neurónios, observado em murganhos Ts65D. A minociclina é uma tetraciclina semi-sintética com propriedades anti-inflamatórias e propriedades neuroprotetoras demonstradas em certos modelos de doença. Este antibiótico facilmente atravessa a BBB e é relativamente seguro, sendo usado no tratamento prolongado de infeções e tendo revelado resultados promissores em doenças neurodegenerativas como Parkinson e Alzheimer. É assim uma possível abordagem para ser aplicada em DS para reduzir o declínio de BFCN (BARTESAGHI et al., 2011).

6.1.3. A nível da neurogénese

6.1.3.1 Ciclosporina A

Os murganhos contêm essencialmente dois nichos neurogénicos: o giro dentado e a zona subventricular (SVZ) do ventrículo lateral. Tendo em conta a relevância destas duas áreas

cerebrais, *Stagni, et al. (2019)* analisaram o impacto da ciclosporina A (CSA) na taxa de proliferação de NPCs em ambas as zonas de murganhos euploides e murganhos modelo Ts65Dn. O tratamento foi realizado com uma dose de 15 mg/kg/dia, administrada durante 13 dias (dia 3-15). Os murganhos Ts65Dn não tratados mostraram possuir um menor número de células proliferativas em comparação aos euploides que também não receberam tratamento. Após receberem o tratamento, o número de células proliferativas nos murganhos Ts65Dn sofreu um grande aumento (+26%) tornando-se semelhante ao número observado nos murganhos euploides não tratados. (Fig. 5 A,B) Este tratamento não apresentou nenhum efeito no número de NPCs no giro dentado dos murganhos euploides (Fig. 5 A,B). De forma a avaliar se doses inferiores a 15 mg/kg conseguiriam de igual forma ter um efeito positivo na proliferação celular, foram tratados murganhos recém-nascidos com 1,5 mg/kg ou 7,5 mg/kg. Este estudo revelou que, contrariamente à dose de 15 mg/kg, estas doses não levaram a um aumento significativo do número de NPCs (Fig. 5 C).

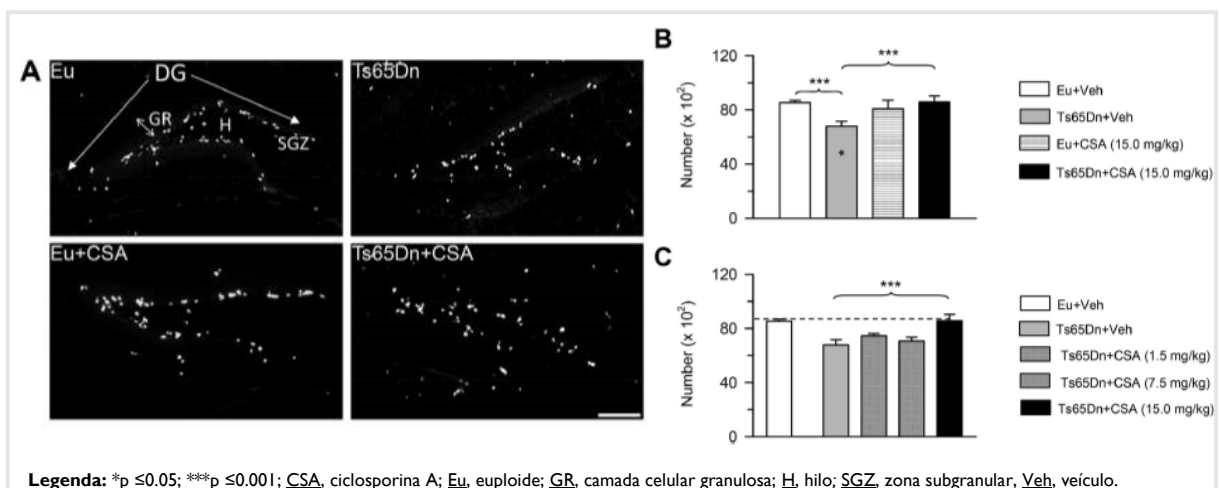


Figura 5| Efeitos do tratamento neonatal com CSA no tamanho das populações celulares (fase S do ciclo celular) do giro dentado de modelos murganhos euploides e Ts65Dn.

A- Imagens representativas de secções coradas por imuno-histoquímica para a BrdU do giro dentado dos murganhos euploides e Ts65Dn não tratados (Eu e Ts65Dn, respetivamente) e dos murganhos euploides e Ts65Dn tratados (Eu+CSA e Ts65Dn+CSA, respetivamente). Tratamento diário com 15.0 mg/kg de CSA do dia 5-15 após o nascimento. B- Número total de células positivas ao BrdU no giro dentado de murganhos euploides não tratados (Eu+Veh), murganhos Ts65Dn não tratados (Ts65Dn+Veh), murganhos euploides tratados (Eu+CSA) e murganhos Ts65Dn tratados (Ts65Dn+CSA). C- Número de células positivas ao BrdU no giro dentado de murganhos Ts65Dn que receberam uma injeção diária de veículo ou CSA nas concentrações de 1.5 mg/kg, 7.5 mg/kg e 15.0 mg/kg do dia 3-15 após o nascimento. O número de células positivas ao BrdU nos murganhos euploides que receberam o veículo reportado em (B) está representado para comparação.

© 2019 STAGNI, F et al. Published in *Neurobiology of Disease*. Neonatal treatment with cyclosporine A restores neurogenesis and spinogenesis in Ts65Dn model of Down syndrome. Elsevier. License number 4621270086821.

O CSA mostrou não apenas restaurar a taxa de proliferação das NPCs trissômicas como aumentar a diferenciação neuronal e melhorar a maturação destas NPCs. Os resultados mostram que o tratamento não tem efeitos adversos no crescimento somático, no entanto, exerce um efeito negativo moderado no crescimento cerebral. Esta redução no peso cerebral observada após o tratamento com CSA aparenta estar relacionada com uma redução no número de algumas populações de células cerebrais. Serão assim necessários estudos adicionais para estabelecer se tratamentos de curto prazo conseguirão restaurar os defeitos no neurodesenvolvimento observados em DS sem afetar o peso cerebral total. É necessário atentar também aos efeitos secundários da atividade imunossupressora da CSA como nefrotoxicidade, neurotoxicidade, neurotoxicidade e hepatotoxicidade (STAGNI *et al.*, 2019).

6.1.3.2. Via de sinalização Sonic Hedgehog

Através do estudo de células de modelos de trissomia 21 murganhos, observou-se que estas exibiam uma resposta reduzida à via de sinalização mediada pela proteína Sonic Hedgehog (SHH) (SINGH *et al.*, 2015). Esta alteração resulta da inibição excessiva desta via de sinalização, resultante da sobreexpressão do seu regulador negativo, o recetor *Patched 1* (PTCHI). A sobreexpressão deste aparenta estar relacionada com os níveis elevados do peptídeo resultante da clivagem da proteína APP, o domínio intracelular da proteína precursora amiloide (AICD), que migra para o núcleo das células modificando a transcrição de vários genes, particularmente o PTCHI (BARTESAGHI *et al.*, 2011; GUIDI *et al.*, 2017). Esta via tem um papel crucial no desenvolvimento cerebral, nomeadamente na diferenciação e proliferação neuronal; a sobreexpressão do recetor da SHH leva à diminuição do tamanho do cerebelo assim como a alterações na aprendizagem e no comportamento. A proteína Sonic Hedgehog revela assim ser um potencial alvo terapêutico para a melhoria das alterações do neurodesenvolvimento em DS. Estratégia promissora esta apoiada pelo facto de uma única injeção de um agonista da via SHH, o *Smoothed Agonist* (SAG), num murganho modelo Ts65Dn, no seu dia de nascimento, ter promovido a normalização da morfologia cerebelar e restaurado alguns défices cognitivos (SHING *et al.*, 2015; GUIDI *et al.*, 2017). No entanto, aparentemente, nem todas as células trissômicas têm a mesma resposta reduzida à SHH e a ativação inapropriada desta via de sinalização poderá causar anomalias a nível da formação e modelação do esqueleto craniofacial. Todos estes conhecimentos são de elevada importância para o *design* de terapêuticas futuras eficazes (SINGH *et al.*, 2015).

6.2. Suplementação Alimentar

Tem sido evidenciado que os indivíduos portadores de trissomia 21 possuem deficiências em determinados micronutrientes como vitaminas, aminoácidos e enzimas (VACCA *et al.*, 2019). Desta forma, a suplementação alimentar poderá ser uma estratégia a adotar com vista na compensação destes défices.

6.2.1. Antioxidantes

Os níveis elevados de peróxido de hidrogénio e radicais hidroxilo, provocados pela atividade excessiva da enzima SOD1 conduzem à peroxidação lipídica e a danos neuronais (BARTESAGHI *et al.*, 2011; BRÁS *et al.*, 2018). Desta forma, será vantajosa a suplementação com antioxidantes, como a coenzima Q10, o selénio, o zinco e as vitaminas A, C e E; com o objetivo de reduzir o *stress* oxidativo cerebral observado (BARTESAGHI *et al.*, 2011; VACCA *et al.*, 2019).

A Coenzima Q10 (CoQ10) é um cofator envolvido na cadeia respiratória mitocondrial, participando na eliminação de radicais livres. Foram reportados valores reduzidos desta coenzima em crianças com DS. O seu potencial poder antioxidante está associado à prevenção de danos no DNA provocados pelo *stress* oxidativo; a sua administração à população pediátrica mostrou reduzir este *stress* oxidativo assim como participar em outros efeitos neuroprotetores (VACCA *et al.*, 2019).

6.2.2. Metabolismo do folato

Os indivíduos com DS têm concentrações elevadas da enzima cistationina β -sintetase o que está na origem de uma deficiência funcional de folato. A deficiência de folato está associada a deficiências intelectuais uma vez que este é essencial para a síntese de neurotransmissores como a serotonina. Neste sentido, será benéfica a suplementação com ácido folínico para a melhoria da função cognitiva destes indivíduos (BARTESAGHI *et al.*, 2011; HART *et al.*, 2017). Esta ação benéfica é fundamentada pelos resultados de um ensaio clínico (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00294593) realizado em crianças com DS, entre os 3 e os 30 meses, com a administração diária de ácido folínico durante 1 ano, tendo-se observado melhorias no desenvolvimento psicomotor destas crianças (BLEHAUT *et al.*, 2010).

6.3. Imunoterapia

6.3.1. Crenezumab

O crenezumab, imunoglobulina isotipo G4 (IgG4), é um anticorpo monoclonal humanizado anti-A β que tem como alvo as múltiplas formas do peptídeo β -amiloide (A β), possuindo elevada afinidade para as formas agregadas. Atua tanto no bloqueio da agregação A β como promove a desagregação dos oligómeros, protegendo os neurónios da citotoxicidade induzida pela acumulação do peptídeo A β (ULTSCH *et al.*, 2016). Uma vez que a deposição de placas amiloides a nível cerebral é uma característica neuropatológica da AD, e que os indivíduos com DS têm um risco aumentado de desenvolverem esta patologia (HART *et al.*, 2017), este anticorpo poderá ter um potencial valor terapêutico no DS, atuando tanto a nível da prevenção como da reversão da toxicidade neuronal.

6.3.2. Vacina lipossómica ACI-24

A ACI-24 é uma vacina lipossómica de nova geração que conduz à produção de uma resposta por parte dos anticorpos contra os peptídeos A β agregados, sem a ativação pró-inflamatória concomitante das células T. Esta vacina é desprovida de epítomos das células T, uma vez que vacinas prévias existentes conduziam a uma resposta exacerbada por parte destas células do sistema imunitário, o que aumentava o risco de meningoencefalite (RAFI, 2016). Está a decorrer um ensaio clínico (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02738450) que avalia a segurança, tolerabilidade e imunogenicidade desta vacina em adultos com DS; este tem data estimada de termino em 2020, sendo que os resultados deste estudo vão ser essenciais para a validação da utilização de vacinas com atividade modificadora da doença (CARACI *et al.*, 2017).

6.4. Terapia génica

O objetivo terapêutico passa pela normalização dos genes sobreexpressos e não pelo silenciamento total da expressão destes genes. Desta forma, a redução na expressão do gene alvo deve ser controlada de forma minuciosa. A aplicação da terapia génica possui algumas vantagens quando comparada com a terapêutica farmacológica convencional, nomeadamente no que diz respeito à sua aplicação seletiva a determinados locais e tipos celulares, reduzindo assim os possíveis efeitos adversos. Para além disso, é possível a obtenção de um efeito prolongado, não sendo necessárias administrações repetidas. Para a sua administração são

necessários vetores seguros e capazes de alcançarem o sistema nervoso central (CNS), podendo estes seres virais ou não virais. Os vetores virais, apesar do risco de poderem desencadear uma resposta imunitária exacerbada, são os mais eficazes, incluindo, entre outros, os vírus adeno-associados (AAV) e os lentivírus. A sua escolha baseia-se em múltiplos fatores, como o tipo de células alvo, a toxicidade, a estabilidade e a facilidade de produção. Quanto aos vetores não virais estes não apresentam patogenicidade, são de fácil preparação e apresentam custos mais baixos em comparação com os virais; no entanto, possuem uma baixa eficiência de transfecção. Entre eles encontram-se diferentes tipos de nanopartículas, devendo estas, neste caso, possuir a capacidade de atravessarem a BBB de forma eficiente (FILLAT e ALTAFAJ, 2012).

6.4.1. Controlo da ação dos microRNAs

Os microRNAs (miRNAs) representam um grupo de RNAs endógenos não codificantes de proteínas, com 18-24 nucleótidos, tendo uma função reguladora. Cada miRNA é capaz de regular múltiplos genes alvos, indicando que os miRNAs regulam múltiplas vias de sinalização e participam em vários processos fisiológicos e patológicos. O principal mecanismo de ação destes é através da interação, via complementaridade par-base, com a região 3' não traduzida (3'- UTR) dos seus mRNAs alvo, inibindo a sua expressão; atuam assim como reguladores negativos da expressão génica (ALEXANDROV *et al.*, 2017; VACCA *et al.*, 2019). O HSA21 possui 30 miRNAs, de acordo com a miRBase (<http://www.mirbase.org/summary.shtml?org=hsa>, acessado a 18/04/2019), sendo que apenas 5 desses aparentam estar relacionados com o fenótipo de DS: o let-7c, o miRNA-99a, miRNA-125b, miRNA-155 e o miRNA-802 (ALEXANDROV *et al.*, 2017; BRÁS *et al.*, 2018). É possível relacionar a sobreexpressão destes com a neuropatologia, os defeitos cardíacos congénitos, a leucemia e a baixa taxa de desenvolvimento de tumores sólidos observados nos indivíduos com DS (BRÁS *et al.*, 2018). Estes cinco miRNAs codificados pelo Ch21 têm capacidade para regular potencialmente a expressão de aproximadamente 3630 genes codificantes de proteínas. É assim de elevada relevância o conhecimento dos mecanismos moleculares envolvidos para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas direcionadas a um único ou a vários miRNAs específicos (ALEXANDROV *et al.*, 2017).

O miR-155 é o que aparenta possuir uma maior correlação com os défices cognitivos; este tem como alvo o mRNA do fator do complemento H (CFH), fator de proteção neuronal de danos a nível axonal e repressor da resposta imune. Este fator encontra-se diminuído em tecidos de indivíduos com DS, devido à sobreexpressão do miR-155, estando relacionado com

a patologia a nível cerebral e com a maior suscetibilidade a infeções nestes indivíduos (BRÁS *et al.*, 2018).

Desta forma, o conhecimento de que a sobreexpressão destes miRNAs, e a consequente diminuição da expressão dos seus genes alvos, está relacionada com os fenótipos de DS, torna exequível a criação de terapêuticas dirigidas aos mesmos, que permitam reverter ou controlar os problemas de saúde destes indivíduos. A inibição destes, através da utilização de oligonucleótidos complementares a uma das cadeias do miRNA, constituiu uma estratégia para restaurar a expressão génica. Esta classe de compostos, denominada de *antagomirs* (miRNAs antagónicos), foi testada no modelo Ts65Dn, especificamente os antagomir-155 e antagomir-802, revelando resultados positivos; demonstrando assim que estes têm um elevado potencial terapêutico (FILLAT e ALTAF AJ, 2012).

6.4.2. Inserção do gene XIST

Foi demonstrado, em iPSCs resultantes da reprogramação de fibroblastos de um paciente do sexo masculino com DS, que a inserção de cDNA do gene XIST consegue silenciar o HSA21 extra nestas células. Os autores basearam-se no mecanismo celular natural compensatório da cópia extra de genes relacionados com o cromossoma X em mamíferos do sexo feminino (XX) em relação aos do sexo masculino (XY). Este mecanismo consiste na existência de uma cadeia longa de RNA não codificante, o XIST, produzido de forma exclusiva e aleatória por um dos cromossomas X, tornando-o inativo, através de modificações na heterocromatina, alterações estas manifestadas citologicamente pela presença de um corpúsculo de Barr (JIANG *et al.*, 2013). A partir deste mecanismo Jiang *et al.* (2013) desenvolveram uma nuclease *zinc finger* (ZFN) que permitiu a adição de um transgene XIST a um dos cromossomas 21 em iPSCs trissómicas para o HSA21. Após a adição deste transgene às iPSCs modelo de DS foi adicionado doxiciclina (dox) ao meio, de forma a regular expressão génica; no meio com dox houve expressão do gene XIST e, consequente, silenciamento de um dos HSA21 das iPSCs enquanto no meio sem dox (controlo) não houve expressão deste gene nem o consequente silenciamento de um dos HSA21 (Fig. 6 a). A expressão do XIST transgénico mostrou aumentar a proliferação de iPSCs e a formação de células progenitoras neurais em cultura (Fig. 6 b,c) (CHIANG, 2018).

Uma das potenciais aplicações deste transgene consiste na sua ativação em células estaminais sanguíneas de crianças com DS, evitando assim a produção de células sanguíneas

excessivas e reduzindo, conseqüentemente, o risco de desenvolvimento de doenças mieloproliferativas como a leucemia. Mais tarde, o mesmo grupo de investigação, desenvolveu um estudo neste mesmo sentido, tendo obtido como resultados uma redução significativa no número de colónias de megacariócitos e de eritrócitos após a expressão do XIST; este estudo foi realizado *in vitro*, num modelo humano de hematopoiese fetal. A aplicação desta técnica em seres vivos implica a inserção do gene XIST nas células certas e no momento adequado. Assim, esta terapia génica é promissora, perspetivando-se que poderá ser aplicada a diferentes tipos celulares trissómicos, normalizando a patogénese inerente a estes (CHIANG, 2018).

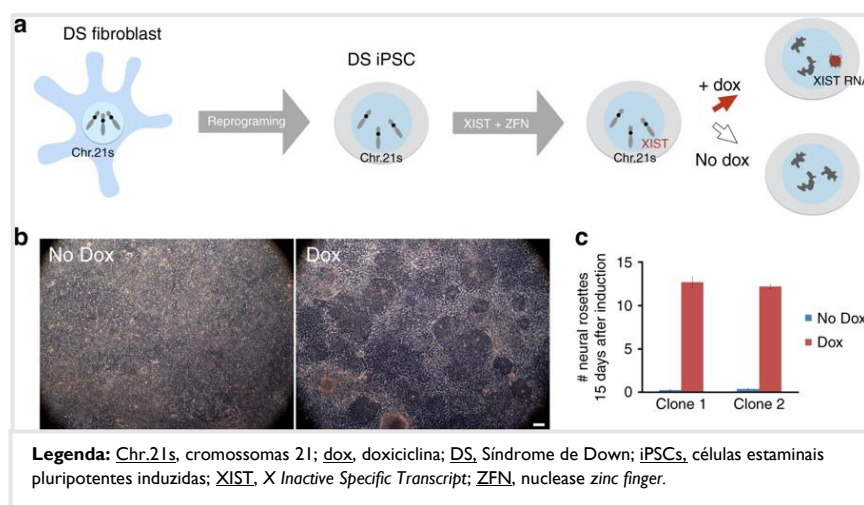


Figura 6j): Estudo da integração do transgene XIST no cromossoma 21 de iPSCs modelo de DS

a- Esquema do silenciamento de um dos cromossomas 21 em iPSCs modelo de DS, induzido pela inserção do transgene XIST. Este transgene induziu à condensação da cromatina de um dos cromossomas 21, formando-se um corpúsculo de Barr. b- Formação de células estaminais neurais (rosetas), 15 dias após a diferenciação neural, sem e com expressão do XIST induzida de forma a silenciar um dos HSA21 (sem dox e com dox, respetivamente). c- Quantificação do número de rosetas neurais no dia 15 para os dois subclones do XIST transgénico

© 2018 CHIANG, JC et al. Published in Nature Communications. Trisomy silencing by XIST normalizes Down syndrome cell pathogenesis demonstrated for hematopoietic defects in vitro. Springer Nature. Open Access (available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07630-y>)

7. Conclusão e Perspetivas Futuras

O mapeamento genético e o desenvolvimento de inúmeros modelos de doença, permitiu a expansão de horizontes na compreensão das vias e funções metabólicas anómalas que caracterizam o Síndrome de Down (VACCA et al., 2019). Nesta revisão foram abordados alguns desses mecanismos e a sua contribuição para a descoberta e desenvolvimento de

possíveis estratégias terapêuticas. Como descrito ao longo da monografia, existem inúmeras estratégias a serem desenvolvidas, atuando a diferentes níveis, desde compostos isolados de fontes naturais a terapia gênica.

O Síndrome de Down é caracterizado a nível cognitivo por um conjunto de diversas alterações. Devido à complexidade de todos os mecanismos envolvidos, para corrigir completamente as falhas no desenvolvimento cerebral poderão ser necessárias combinações de diferentes estratégias terapêuticas, atuando a diferentes níveis (STAGNI *et al.*, 2019). No entanto, existem estudos, como o de Stagni *et al.* (2019) com a ciclosporina, que mostram que o tratamento com um único fármaco, administrado numa janela terapêutica apropriada, poderá conseguir restaurar uma diversidade de defeitos do cérebro destes indivíduos. Para além deste fármaco considero que as estratégias abordadas mais relevantes passam pelas relacionadas com a terapia gênica, nomeadamente a inserção do transgene XIST em células trissômicas, devido à sua atuação ao nível do genoma, normalizando a expressão dos genes do HSA21.

Nos últimos anos, o uso de terapias gênicas em doenças genéticas tem sofrido um progresso considerável (MICHIE *et al.*, 2019). Para além das técnicas de adição de genes terapêuticos e de silenciamento genético, mencionadas anteriormente, a engenharia genética permite também a edição do genoma. A aplicação da edição gênica ao Síndrome de Down passaria pela deleção completa do HSA21 extra. Apesar desta abordagem ser vista ainda como uma ideia futurista foram realizados estudos em modelos murinhos e em iPSCs neste sentido, usando o sistema CRISPR/Cas9, tendo sido obtidos resultados promissores (ZUO *et al.*, 2017).

Estes avanços científicos no campo da edição do genoma têm questões éticas, filosóficas e sociais implícitas. As famílias ou cuidadores de indivíduos com DS vêm muitas vezes esta aneuploidia como uma variação humana com valor inerente e, desta forma, tornam-se relutantes à adoção de intervenções a nível do genoma. Assim, embora muitos dos pais de portadores de DS assumam aprovar futuras possíveis terapias gênicas, é necessário um diálogo contínuo com estas famílias acerca de todos os aspetos inerentes às tecnologias de modificação genética, explorando as opiniões e crenças do meio familiar em paralelo com os avanços científicos (INGLIS *et al.*, 2014; MICHIE *et al.*, 2019).

8. Referências Bibliográficas

AKIYAMA, H.; BARGER, S.; BARNUM, S.; BRADT, B.; BAUER, J.; COLE, G.M.; COOPER, N.R.; EIKELENBOOM, P.; EMMERLING, M.; FIEBICH, B.L.; FINCH, C.E.; FRAUTSCHY, S.; GRIFFIN, W.S.; HAMPEL, H.; HULL, M.; LANDRETH, G.; LUE, L.; MRAK, R.; MACKENZIE, I.R.; MCGEER, P.L.; O'BANION, M.K.; PACHTER, J.; PASINETTI, G.; PLATA-SALAMAN, C.; ROGERS, J.; RYDEL, R.; SHEN, Y.; STREIT, W.; STROHMEYER, R.; TOOYOMA, I.; VAN MUISWINKEL, F.L.; VEERHUIS, R.; WALKER, D.; WEBSTER, S.; WEGRZYNIAK, B.; WENK, G.; WYSS-CORAY, T. - **Inflammation and Alzheimer's disease.** *Neurobiol Aging.* 21, 3 (2000) 383-421.

ALEXANDROV, P.N.; PERCY, LUKIW, W.J. - **Chromosome 21-Encoded microRNAs (mRNAs): Impact on Down's Syndrome and Trisomy-21 Linked Disease.** *Cell Mol Neurobiol.* 38, 3 (2018) 769-774.

ALTAF AJ, X.; MARTÍN, E.D.; ORTIZ-ABALIA, J.; VALDERRAMA, A.; LAO-PEREGRÍN, C.; DIERSSEN, M.; FILLAT, C. - **Normalization of Dyrk1A expression by AAV2/1-shDyrk1A attenuates hippocampal-dependent defects in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome.** *Neurobiol Dis.* 52 (2013) 117–127.

ANTONARAKIS, S.E.; LYLE, R.; DERMITZAKIS, E.T.; REYMOND, A.; DEUTSCH, S. - **Chromosome 21 and down syndrome: from genomics to pathophysiology.** *Nat. Rev. Genet.* 10 (2004) 725-38.

ANTONARAKIS, S.E. - **Down syndrome and the complexity of genome dosage imbalance.** *Nat Rev Genet.* 18, 3 (2017) 147–163.

BALLARD, C.; MOBLEY, W.; HARDY, J.; WILLIAMS, G.; CORBETT, A. - **Dementia in down's syndrome.** *Lancet Neurol.* 15, 6 (2016) 622–636.

BARTESAGHI, R., GUIDI, S., CIANI, E. - **Is it possible to improve neurodevelopmental abnormalities in Down Syndrome?** *Rev Neurosci.* 22, 4 (2011) 419-455.

BAYÓN, J.C.; ORRUÑO, E.; PORTILLO, M.I.; ASUA, J. - **The consequences of implementing non-invasive prenatal testing with cell-free foetal DNA for the detection of Down syndrome in the Spanish National Health Service: a cost-effectiveness analysis.** *Cost Eff Resour Alloc.* 17, 6 (2019)

BELKADY, B.; ELKHATTABI, L.; ELKARHAT, Z.; ZAROUF, L.; RAZOKI, L.; ABOULFARAJ, J.; NASSEREDDINE, S.; CADI, R.; ROUBA, H.; BARAKAT, A. - **Chromosomal Abnormalities in Patients with Intellectual Disability: A 21-Year Retrospective Study.** *Hum Hered.* 83, 5 (2018) 274-282.

BLEHAUT, H.; MIRCHER, C.; RAVEL, A.; CONTE, M.; PORTZAMPARC, V.; PORET, G.; KERMADEC, F.; RETHORE, M.; STURTZ, F. - **Effect of leucovorin (folinic acid) on the developmental quotient of children with Down's syndrome (trisomy 21) and influence of thyroid status.** *PLoS One.* 5, 1 (2010) e8394.

BRÁS, A.; RODRIGUES, A.S.; GOMES, B.; RUEFF, J. - **Down syndrome and microRNAs.** *Biomed Rep.* 8, 1 (2018) 11-16.

CARACI, F.; LULITA, M.F.; PENTZ, R.; FLORES AGUILAR, L.; ORCIANI, C.; BARONE, C.; ROMANO, C.; DRAGO, F.; CUELLO A.C. - **Searching for new pharmacological targets for the treatment of Alzheimer's disease in Down syndrome.** *European Journal of Pharmacology.* 817 (2017) 7-19.

CHIANG, J.C.; JIANG, J.; NEWBURGER, P.E.; LAWRENCE, J.B. - **Trisomy silencing by XIST normalizes Down syndrome cell pathogenesis demonstrated for hematopoietic defects in vitro.** *Nat Commun.* 9, 1 (2018) 5180.

COLACURCIO, D.J.; PENSALFINI, A.; JIANG, Y.; NIXON, R.A. - **Dysfunction of Autophagy and Endosomal-lysosomal Pathways: Roles in Pathogenesis of Down Syndrome and Alzheimer's Disease.** *Free Radical Biology and Medicine.* 114 (2018) 40-5.

CONTESTABILE, A.; MAGARA, S.; CANCEDDA, L. - **The GABAergic Hypothesis for Cognitive Disabilities in Down Syndrome.** *Front Cell Neurosci.* 11 (2017) 54.

CURNOW, K.J.; SANDERSON, R.K.; BERUTI, S. - Noninvasive Detection of Fetal Aneuploidy Using Next Generation Sequencing. In: LEVY, B., *Prenatal Diagnosis*, New York: Humana Press, 2019, ISBN: 978-1-4939-8887-7 p. 325-345. EGGERMANN, T.; SCHWANITZ, G. - **Genetics of Down Syndrome.** In: DEY, S., *Genetics and Etiology of Down Syndrome*, Croatia: InTech, 2011, ISBN: 978-953-307-631-7. p. 3-22.

FARIA, N. - **Testes de rastreio pré-natal são caros e não substituem a amniocentese.** Público, 2016. [Acedido a 25/04/2019] Disponível na Internet: <https://www.publico.pt/2016/06/29/sociedade/noticia/testes-de-rastreio-prenatal-sao-caros-e-nao-substituem-a-amniocentese-l736069>

FEKI, A.; HIBAOU, Y. - **DYRK1A Protein, A Promising Therapeutic Target to Improve Cognitive Deficits in Down Syndrome.** *Brain Sci.* 8, 10 (2018) 187.

FERNANDEZ, F.; MORISHITA, W.; ZUNIGA, E.; NGUYEN, J.; BLANK, M.; MALENKA, R.C.; GARNER, C.C. - **Pharmacotherapy for cognitive impairment in a mouse model of Down syndrome.** *Nat Neurosci.* 10, 4 (2007) 411–413

FILLAT, C.; ALTAFAJ, X. - **Gene therapy for Down syndrome.** *Prog Brain Res.* 197 (2012) 237–247.

GUEDJ, F.; SÉBRIÉ, C.; RIVALS, I.; LEDRU, A.; PALY, E.; BIZOT, J.C.; SMITH, D.; RUBIN, E.; GILLET, B.; ARBONES, M.; DELABAR, J.M. - **Green tea polyphenols rescue of brain defects induced by overexpression of Dyrkl1a.** *PLoS ONE.* 4, 2 (2009) e4606.

HART, S.J.; VISOOTSAK, J.; TAMBURRI, P.; PHUONG, P.; BAUMER, N.; HERNANDEZ, M.C.; SKOTKO, B.G.; OCHOA-LUBINOFF, C.; LIOGIER D'ARDHUY, X.; KISHNANI, P.S.; SPIRIDIGLIOZZI, G.A. - **Pharmacological interventions to improve cognition and adaptive functioning in Down syndrome: Strides to date.** *Am. J. Med. Genet. Part A,* 173, 11 (2017) 3029–3041.

HIBAOU, Y.; FEKI, A. - **Concise Review: Methods and Cell Types Used to Generate Down Syndrome Induced Pluripotent Stem Cells.** *J Clin Med.* 4, 4 (2015) 696–714.

HOU, S.; LU, P. - **Direct reprogramming of somatic cells into neural stem cells or neurons for neurological disorders.** *Neural Regen Res.* 11, 1 (2016) 28-31.

INGLIS, A.; LOHN, Z.; AUSTIN, J.C.; HIPPMAN, C. - **A 'cure' for Down syndrome: what do parents want?** *Clin Genet.* 86, 4 (2014) 310-317.

JIANG, J.; JING, Y.; COST, G.J.; CHIANG, J.C.; KOLPA, H.J.; COTTON, A.M.; CARONE, D.M.; CARONE, B.R.; SHIVAK, D.A.; GUSCHIN, D.Y.; PEARL, J.R.; REBAR, E.J.; BYRON, M.; GREGORY, P.D.; BROWN, C.J.; URNOV, F.D.; HALL, L.L.; LAWRENCE, J.B. - **Translating dosage compensation to trisomy 21.** *Nature.* 500, 7462 (2013) 296-300.

KAZEMI, M.; SALEHI, M.; KHEIROLLAHI, M. - **Down Syndrome: Current Status, Challenges and Future Perspectives.** *Int J Mol Cell Med.* 5, 3 (2016) 125–133.

KOC, A.; OZER KAYA, O.; OZYILMAZ, B.; KUTBAY, Y.B.; KIRBIYIK, O.; OZDEMIR, T.R.; ERDOGAN, K.M.; ERDOGAN, M.S.; OZTEKIN, D.C.; OZEREN, M.; PALA, H.G.; EKIN, A.; GEZER, C.; YILDIRIM, A.G.S.; ATAKUL, B.K.; KURTULMUS, S.; TURHAN, U.; TANER, C.E.

- **Targeted fetal cell-free DNA screening for aneuploidies in 4,594 pregnancies: Single center study.** *Mol Genet Genomic Med.* (2019) e00678.

KUMAR DEY, S.; GHOSH, S. - **Etiology of Down Syndrome: Risk of Advanced Maternal Age and Altered Meiotic Recombination for Chromosome 21 Nondisjunction.** In: DEY, S., *Genetics and Etiology of Down Syndrome*, Croatia: InTech, 2011, ISBN: 978-953-307-631-7. p. 24-36.

LI, L.B.; CHANG, K.H.; WANG, P.R.; HIRATA, R.K.; PAPAYANNOPOULOU, T.; RUSSELL, D.W. - **Trisomy correction in Down syndrome induced pluripotent stem cells.** *Cell stem cell.* 11, 5 (2012) 615–619.

LOANE, M.; MORRIS, J.K.; ADDOR, M.C.; ARRIOLA, L.; BUDD, J.; DORAY, B.; GARNE, E.; GATT, M.; HAEUSLER, M.; KHOSHNOOD, B.; KLUNGSØYR MELVE, K.; LATOS-BIELENSKA, A.; MCDONNELL, B.; MULLANEY, C.; O'MAHONY, M.; QUEISSER-WAHRENDORF, A.; RANKIN, J.; RISSMANN, A.; ROUNDING, C.; SALVADOR, J.; TUCKER, D.; WELLESLEY, D.; YEVTUSHOK, L.; DOLK, H. - **Twenty-year trends in the prevalence of Down syndrome and other trisomies in Europe: impact of maternal age and prenatal screening.** *Eur J Hum Genet.* 21, 1 (2013) 27–33.

MAXWELL, S.; O'LEARY, P. - **Public funding for non-invasive prenatal testing for fetal aneuploidy - It's time.** *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 58, 4 (2018) 385–387.

MICHIE, M.; ALLYSE, M. - **Gene modification therapies: views of parents of people with Down syndrome.** *Genet Med.* 21, 2 (2019) 487-492.

NAKANO-KOBAYASHI, A.; AWAYA, T.; KII, I.; SUMIDA, Y.; OKUNO, Y.; YOSHIDA, S.; SUMIDA, T.; INOUE, H.; HOSOYA, T.; HAGIWARA, M. - **Prenatal neurogenesis induction therapy normalizes brain structure and function in Down syndrome mice.** *Proc Natl Acad Sci U S A.* 114, 38 (2017) 10268-10273.

ORTIZ-ABALIA, J.; SAHÚN, I.; ALTAFAJ, X.; ANDREU, N.; ESTIVILL, X.; DIERSSEN, M.; FILLAT, C. - **Targeting Dyrk1A with AAVshRNA attenuates motor alterations in TgDyrk1A, a mouse model of Down syndrome.** *Am. J. Human Genet.* 83, 4 (2008) 479–488.

PAPAVASSILIOU, P.; CHARALSAWADI, C.; RAFFERTY, K.; JACKSON-COOK, C. - **Mosaicism for trisomy 21: a review.** *Am J Med Genet A.* 167, 1 (2015) 26–39.

RAFII, MS. - **Improving Memory and Cognition in Individuals with Down Syndrome.** *CNS Drugs.* 30, 7 (2016) 567-573.

RAFII, MS.; SKOTKO, B.G.; MCDONOUGH, M.E. - **A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase II study of oral ELND005 (scyllo -inositol) in young adults with down syndrome without dementia.** *Journal of Alzheimer's Disease.* 58, 2 (2017) 401-411.

RIZOS, D. - **Prenatal Screening for Chromosomal Abnormalities: Where do We Stand Today in Mediterranean Countries?** *EJIFCC.* 29, 4 (2018) 274–279.

SAUNA-AHO, O.; BJELOGRILICLAAKSO, N.; SIREN, A.; ARVIO, M. - **Signs indicating dementia in Down, Williams and Fragile X syndromes.** *Mol Genet Genomic Med.* 5 (2018) 855-860.

SHAJPAL, A.; SIDDIQUI, F. - **Screening for Down syndrome.** *Obstet Gynaecol Reprod Med.* 27, 11 (2017) 333-337.

SHERMAN, S.L.; ALLEN, E.G.; BEAN, L.H.; FREEMAN, S.B. - **Epidemiology of Down Syndrome.** *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 13, 3 (2007) 221-227.

SINGH, N.; DUTKA, T.; DEVENNEY, B.M.; KAWASAKI, K.; REEVES, R.H.; RICHTSMEIER, J.T. - **Acute upregulation of hedgehog signaling in mice causes differential effects on cranial morphology.** *Disease Models & Mechanisms.* 8 (2015) 271-279.

STAGNI, F.; SALVALAI, M.E.; GIACOMINI, A.; EMILI, M.; UGUAGLIATI, B.; XIA, E.; GRILLI, M.; BARTESAGHIA, R.; GUIDI, S. - **Neonatal treatment with cyclosporine A restores neurogenesis and spinogenesis in the Ts65Dn model of Down syndrome.** *Neurobiol Dis.* 129 (2019) 44-55.

SUN, D.; LEE, Y.S.; MALHOTRA, A.; KIM, H.K.; MATECIC, M.; EVANS, C.; JENSEN, R.V.; MOSKALUK, C.A.; DUTTA, A. - **miR-99 family of MicroRNAs suppresses the expression of prostate-specific antigen and prostate cancer cell proliferation.** *Cancer Res.* 71, 4 (2011) 1313-1324.

ULTSCH, M.; LI, B.; MAURER, T.; MATHIEU, M.; ADOLFSSON, O.; MUHS, A.; PFEIFER, A.; PIHLGREN, M.; BAINBRIDGE, T.W.; REICHEL, M.; ERNST, J.A.; EIGENBROT, C.; FUH, G.; ATWAL, J.K.; WATTS, R.J.; WANG, W. - **Structure of Crenezumab Complex with A β Shows Loss of β -Hairpin.** *Sci Rep.* 6 (2016) 39374.

UNDERWOOD, E. - **Can Down Syndrome be treated?** *Science*. 343, 6174 (2014) 964-967.

VACCA, R.A.; BAWARI, S.; VALENTI, D.; TEWARI, D.; FAZEL NABAVI, S.; SHIROOIE, S.; SAH, A.N.; VOLPICELLA, M.; BRAIDY, N.; NABAVI, S.M. - **Down syndrome: neurobiological alterations and therapeutic targets.** *Neurosci Biobehav Rev*. 98 (2019) 234-255.

VICIC, A.; HAFNER, T.; VLATKOVIC, IB.; KORAC, P.; HABEK, D.; STIPOLJEV, F. - **Prenatal diagnosis of Down syndrome: A 13-year retrospective study.** *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology*. 56, 6 (2017) 731-735.

WINNER, B.; WINKLER, J. - **Adult neurogenesis in neurodegenerative diseases.** *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 7, 4 (2015) a021287.

XING, Z; LI, Y; PAO, A; KAAS, G; EUGENE YU, Y - **CRISPR/Cas9-Facilitated Chromosome Engineering to Model Human Chromosomal Alterations.** In: DEY, S., *Advances in Research on Down Syndrome*, Croatia: InTech, 2017, ISBN: 978-953-51-3

ZUO, E.; HUO, X.; YAO, X.; HU, X.; SUN, Y.; YIN, J.; HE, B.; WANG, X.; SHI, L.; PING J.; WEI, Y.; YING, W.; WEI, W.; LIU, W.; TANG, C.; LI, Y.; HU, J.; YANG, H. - **CRISPR/Cas9-mediated targeted chromosome elimination.** *Genome Biol*. 18, 1 (2017) 224.