



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Daniela Gouveia Sousa

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O Potencial Terapêutico dos Neuroesteroides no Acidente Vascular Cerebral Isquémico” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Catarina Maio, Dra. Rita Henriques e do Professor Doutor Alcino Leitão e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2022



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

**Daniela Gouveia Sousa**

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O Potencial Terapêutico dos Neuroesteroides no Acidente Vascular Cerebral Isquémico” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Catarina Maio, Dra. Rita Henriques e do Professor Doutor Alcino Leitão e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2022

### Declaração

Eu, Daniela Gouveia Sousa, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2017277319, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O Potencial Terapêutico dos Neuroesteroides no Acidente Vascular Cerebral Isquémico” apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 2 de setembro de 2022



---

(Daniela Gouveia Sousa)

## **Agradecimentos**

Chegado o fim desta etapa, gostaria de agradecer a todos aqueles que me apoiaram neste percurso e tornaram possível a concretização desta monografia.

Ao Professor Doutor Alcino Leitão pela disponibilidade demonstrada na orientação da monografia.

A toda a equipa técnica da Farmácia Maio, pela forma como me acolheram, pelos conhecimentos transmitidos e por me proporcionarem uma experiência tão enriquecedora.

À equipa da Owlpharma, pelos ensinamentos partilhados e por sempre se mostrar disponível para me ajudar.

Aos meus amigos, que sempre me apoiaram quando mais precisei, destacando a Joana e a Mariana de Leiria, a Diana, a Maria, a Mariana e a Teresa que conheci em Coimbra e tornaram este percurso ainda melhor. Levo comigo todos os momentos vividos.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, por contribuir para a minha formação académica e crescimento pessoal.

Por último, um agradecimento especial a toda a minha família por me proporcionarem esta oportunidade e por serem o meu pilar. Obrigada por sempre me incentivarem a dar o melhor de mim.

***Muito obrigada!***

## ÍNDICE

### PARTE I: RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

Lista de Abreviaturas .....	7
1- Introdução .....	8
2 - Farmácia Maio (Everlasting, Lda.) .....	8
3 - Análise SWOT .....	9
3.1- Pontos Fortes .....	9
3.1.1 Equipa técnica .....	9
3.1.2 - Localização da farmácia .....	9
3.1.3 - Robot .....	10
3.1.4 - Protocolos .....	10
3.1.5 - Execução de diversas tarefas.....	10
3.2 - Pontos Fracos.....	13
3.2.1 - Espaço físico .....	13
3.2.2 - Dificuldade na realização de atendimentos ao público.....	14
3.2.3 - Reduzida prática em contexto real ao longo do curso .....	14
3.2.4 - Grande variedade de produtos.....	15
3.3 - Oportunidades .....	15
3.3.1 - Serviços prestados - Realização de testes de antigénio à COVID-19 .....	15
3.3.2 - Preparação de manipulados.....	16
3.3.3 - Cooperação entre farmácias - Grupo Still The Same.....	17
3.3.4 - Formações .....	17
3.4 - Ameaças.....	17
3.4.1 - Parafarmácias .....	17
3.4.2 - Produtos esgotado .....	18
3.4.3 - Utentes.....	18
4 - Casos Clínicos.....	19
5 - Considerações Finais .....	21
6 - Referências Bibliográficas.....	22

### PARTE II: RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM CONSULTORIA FARMACÊUTICA

1- Introdução.....	24
2 - OWLPHARMA – CONSULTING, LDA.....	25
3 - Análise SWOT .....	26
3.1 - Pontes Fortes .....	26
3.1.1 - Equipa .....	26
3.1.2 - Diversidade de tarefas realizadas.....	26
3.1.3 - Formações iniciais .....	27
3.1.4 - Autonomia .....	27
3.2 - Pontos fracos.....	28
3.2.1 - Volume de trabalho incerto .....	28
3.2.2 - Divisão de tarefas .....	28
3.3 - Oportunidades .....	28
3.3.1 - Possibilidade de estagiar em Assuntos Regulamentares .....	28

3.3.2 - Desenvolvimento de diferentes competências .....	28
3.3.3 - Integração de conhecimentos adquiridos ao longo do curso .....	29
3.4 - Ameaças.....	29
3.4.1 - Alterações constantes na legislação .....	29
3.4.2 - Plano Curricular .....	29
5 - Referências Bibliográficas.....	31

### **PARTE III: Monografia**

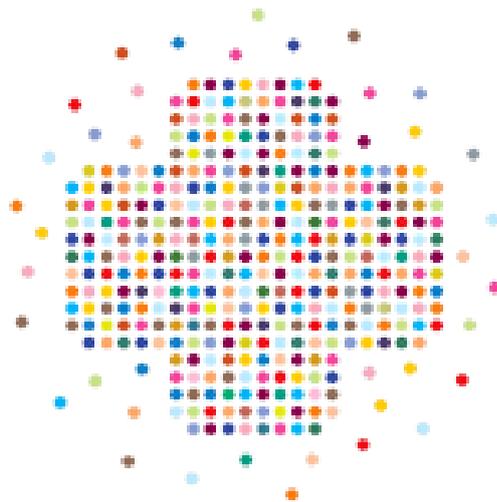
#### **"O POTENCIAL TERAPÊUTICO DOS NEUROESTEROIDES NO ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO"**

Resumo .....	35
Abstract .....	36
1 - Introdução.....	37
2 - Caracterização dos neuroesteroides .....	38
3 - Biossíntese dos neuroesteroides .....	39
4 - Patofisiologia do acidente vascular cerebral.....	41
5 - Papel neuroprotetor dos neuroesteroides no acidente vascular cerebral e os seus mecanismos de ação.....	43
5.1 - Estrogénios .....	44
5.2 - Progesterona .....	46
5.3 - Dehidroepiandrosterona (DHEA) e Sulfato de Dehidroepiandorsterona (DHEA) .....	48
5.4 - Modulação dos recetores do ácido $\gamma$ -aminobutírico tipo A (GABA <sub>A</sub> Rs) .....	50
5.5 - Modulação dos recetores de N-metil-D-aspartato (NMDARs).....	53
6 - Neuroesteroides sintéticos.....	55
7 - Perspetivas Futuras e Conclusão .....	56
8 - Referências Bibliográficas:.....	58

# PARTE I

## RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

Sob a orientação da Dra. Catarina Maio



farmácia maio

## **Lista de Abreviaturas**

**DCI** - Denominação Comum Internacional

**FM** - Farmácia Maio

**IPL** – Instituto Politécnico de Leiria

**MICF** - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**MNSRM** - Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

**MSRM** - Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

**RSP** - Receita Sem Papel

**SI** - Sistema Informático

**SNC** - Sistema Nervoso Central

**SNS** - Sistema Nacional de Saúde

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

**TRAg** - Testes Rápidos de Antígeno

## **I - Introdução**

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) inclui no seu plano de estudos a realização de um estágio curricular em Farmácia Comunitária de caráter obrigatório. Este estágio torna-se crucial para a formação do futuro farmacêutico, uma vez que podemos finalmente estar em contacto com o público e aplicarmos os conhecimentos adquiridos ao longo destes 5 anos.

O farmacêutico é o agente de saúde pública mais próximo da população e, portanto, é fundamental estabelecer uma relação de confiança com o utente, a fim de obter uma boa resposta à terapêutica. Somos diariamente postos à prova pelo utente e as suas dúvidas, o que revela a grande responsabilidade que o nosso trabalho pode ter e a sua influência no tratamento do utente. Desta forma, é crucial a realização deste estágio para adquirirmos competências tanto a nível de comunicação como técnico-científicas.

Para a realização deste relatório vou-me basear na minha experiência enquanto estagiava na Farmácia Maio (FM), localizada em Leiria, sob a orientação da Dra. Catarina Maio que assume a direção técnica da farmácia. O meu estágio teve início a 10 de janeiro e terminou a 29 de abril, durante este período tive a oportunidade de vivenciar o dia-a-dia de uma farmácia e realizar várias tarefas, nas quais pude integrar a aprendizagem teórica adquirida nas aulas na prática profissional.

Assim, a reflexão do meu estágio será realizada segundo uma análise SWOT, que se divide numa análise interna, onde são expostos os pontos fortes (*Strengths*) e os pontos fracos (*Weakenesses*), e numa análise externa onde estão representadas as oportunidades (*Opportunities*) e as ameaças (*Threats*). Por fim, serão apresentados 5 casos práticos com os quais me deparei na farmácia e tecida uma conclusão com um balanço global do estágio.

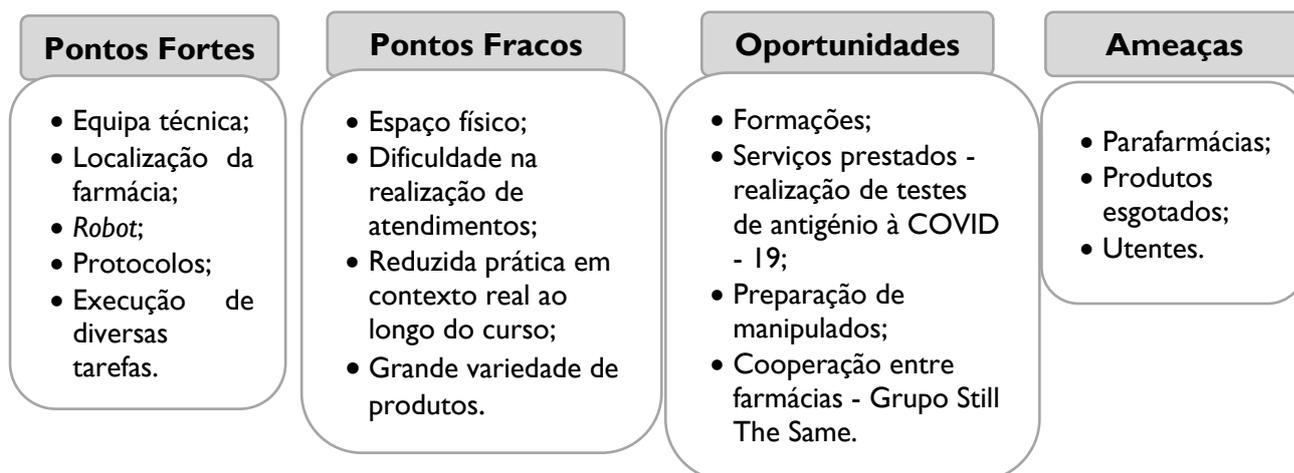
## **2 - Farmácia Maio (Everlasting, Lda.)**

A FM localiza-se no centro comercial Leiria Shopping, loja 53, IC2, Alto do Vieiro, Leiria, pertencendo a um grupo de farmácias designado Still The Same, do qual fazem parte várias outras farmácias, sendo que a sede do grupo fica no Porto.

Encontra-se em funcionamento todos os dias da semana das 9h às 23h, sendo constituída por uma equipa de 12 elementos.

Dispõe de uma sala de atendimento ao público, um gabinete de atendimento individualizado, onde são realizados testes bioquímicos, consultas de nutrição e formações, uma zona de armazenamento de medicamentos, uma zona de receção, conferencia e devolução de encomendas, uma casa de banho, uma copa, um laboratório e dois escritórios.

### 3 - Análise SWOT



**Fig. 1:** Análise SWOT - *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

#### 3.1- Pontos Fortes

##### 3.1.1 Equipa técnica

A equipa da FM é composta por 12 elementos, o que confere uma maior diversidade na realização de tarefas, uma vez que personalidades diferentes lidam de forma diferente com as situações, havendo também espaço para o surgimento de novas ideias. É por isso, uma equipa muito completa cujo objetivo é satisfazer as necessidades dos utentes.

Para além disso, há uma grande entreatajuda na equipa o que proporciona um ótimo ambiente de trabalho, uma maior organização das tarefas e uma resolução de problemas mais rápida. É de salientar, a grande integração e confiança nas tarefas realizadas que a equipa da FM me proporcionou, o que fomentou o meu crescimento, autonomia e aprendizagem.

Assim, durante a realização do estágio tive a oportunidade de realizar vários atendimentos com a ajuda dos elementos da equipa, que sempre me puseram à vontade para colocar as dúvidas que tinha.

##### 3.1.2 - Localização da farmácia

A FM encontra-se inserida num *shopping*, e visto que é um espaço frequentado por um elevado número de pessoas, favorece a sua ida à farmácia por uma questão de acessibilidade. Desta forma, apresenta um público-alvo bastante heterogéneo, com utentes de diferentes faixas etárias e estatutos socioeconómicos, habituais como não habituais, o que me possibilitou ir de encontro a diferentes necessidades e personalidades que requeriam

modos de atendimento personalizados. Assim, foi muito importante adaptar-me a cada utente e situação, de forma a conseguir prestar o melhor atendimento possível.

### **3.1.3 - Robot**

A maioria dos Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM) encontram-se armazenados no *robot*, o que resulta numa maior facilidade na sua arrumação, assim como na sua dispensa. Isto leva a uma poupança de tempo na sua procura, já que através do sistema informático (SI) é possível fazer com que o *robot* dispense os medicamentos quase instantaneamente. Esta tecnologia é uma mais-valia para a farmácia, visto dar maior rentabilidade ao atendimento e para além disso, reduz os erros de *stock* e de dispensa de medicamentos.

### **3.1.4 - Protocolos**

A FM possui protocolos com várias entidades, possibilitando um desconto de 10% em todas as compras. Tem ainda protocolos com alunos e ex-alunos do Instituto Politécnico de Leiria (IPL), assim como os lojistas do *shopping*, o que acaba por trazer mais pessoas à farmácia.

Para quem não possui este protocolo, pode adquirir um “cartão” no qual se acumulam pontos, que chegando aos 250 pontos, recebe 5 euros para descontar na farmácia.

Estes protocolos têm o objetivo de fidelizar os utentes, visto que estes se deslocam mais vezes à mesma farmácia, a fim de obterem o desconto pretendido.

### **3.1.5 - Execução de diversas tarefas**

Para que uma farmácia tenha os seus serviços otimizados e preste atendimentos de qualidade que suprimam as necessidades dos seus consumidores, é necessário haver uma boa gestão da farmácia, e para isso há diversas funções, que juntamente, vão garantir o sucesso de uma farmácia.

Durante o meu estágio pude desempenhar diversas tarefas que me permitiram conhecer o funcionamento de uma farmácia e a sua gestão.

Comecei pelo *BackOffice*, fazendo a receção de encomendas, o seu armazenamento e devolução, caso fosse necessário. Aqui tive um maior contacto com os produtos que chegavam à farmácia e pude me familiarizar com os nomes comerciais, bem como de vários produtos de venda livre. Além disso, tive maior perceção de quais os produtos mais vendidos, percebendo desse modo a gestão do *stock* feita pela farmácia.

A farmácia deve dispor dos medicamentos e produtos de saúde em quantidade, qualidade, custo e a tempo que suprimam as necessidades dos consumidores. Sendo assim, é fundamental fazer uma seleção dos produtos mais relevantes para a farmácia.

#### Realização de encomendas

A realização de encomendas é feita tendo em conta vários fatores, como o histórico de consumos, os hábitos de prescrição dos médicos da zona, a época sazonal, as campanhas publicitárias, pelo que através do Sifarma2000®, onde está estabelecido um *stock* máximo e mínimo, são enviadas as encomendas aos fornecedores.

Estas encomendas são efetuadas diariamente, sendo essencial serem prontamente rececionadas para estarem em *stock* e serem fornecidas aos utentes.

#### Devoluções

Aquando da receção é necessário estarmos atentos às validades e ao estado dos produtos, visto que se não estiverem conforme os requisitos legais e de qualidade da farmácia, é realizada a sua devolução. Na devolução devemos indicar o produto, o motivo e o número interno correspondente à fatura de origem. No final é impressa uma nota de devolução em triplicado, sendo que o original e o duplicado são enviados para o distribuidor e o triplicado fica na farmácia a aguardar pela sua regularização.

#### Arrumação de produtos

A arrumação de produtos é a tarefa que se segue após a receção, sendo essencial para a correta conservação dos mesmos e para um rápido atendimento. Assim, muitos dos produtos expostos, estão localizados de forma estratégica para chamarem à atenção do consumidor. É importante que a arrumação siga o princípio *first-in, first-out* para dispensarmos primeiro os produtos de validade inferior.

Esta tarefa permitiu-me, desde logo, familiarizar-me com o espaço da farmácia, perceber onde estão dispostos os produtos e quais se pretendem escoar mais rapidamente.

Desta forma, com a realização destas tarefas tive a oportunidade de conhecer o funcionamento de uma farmácia e consolidar vários conhecimentos adquiridos ao longo do curso, bem como melhorar o meu desempenho.

#### Atendimento ao público

Antes de iniciar o atendimento ao público, foram-me transmitidos conceitos importantes para um bom atendimento, como a postura, o tipo de perguntas a colocar, demonstrar confiança e assertividade, através do acompanhamento dos atendimentos da equipa.

A cedência de medicamentos e produtos farmacêuticos é realizada pelo farmacêutico através de uma prescrição médica, por automedicação ou por indicação farmacêutica, em que este avalia a medicação a dispensar e fornece toda a informação para o seu uso correto, de modo a reforçar o sucesso da terapêutica. Nem sempre é alcançado o potencial benefício dos medicamentos, o que pode estar relacionado com erros na posologia, na sua administração e falta de adesão à terapêutica, a interações medicamentosas ou medicamento-alimento ou até a reações adversas. <sup>1</sup>

Assim sendo, e visto que o farmacêutico é o último profissional de saúde a estar em contacto com o utente antes deste iniciar a terapêutica, o papel do farmacêutico é crucial para o sucesso da terapêutica.

### Receituário

Durante o atendimento estamos em contacto com diferentes tipos de prescrição, esta é maioritariamente realizada por via eletrónica, visto que promove uma maior segurança na dispensa de medicamentos, facilita a comunicação entre profissionais de saúde e agiliza os processos. <sup>2</sup>

### Receitas manuais

As receitas manuais são permitidas em casos excecionais como falência informática, inadaptação fundamentada do prescriptor, prescrição efetuadas ao domicílio e até 40 receitas por mês. <sup>2</sup>

Existem várias especificidades deste tipo de receita: não podem conter rasuras, caligrafias diferentes, nem serem prescritas com canetas diferentes ou a lápis. Deve estar assinalado com uma cruz a identificação da exceção que justifica a utilização da receita manual, nome e número do Sistema Nacional de Saúde (SNS) do utente, a identificação do local de prescrição ou respetiva vinheta, se aplicável, data da prescrição e a assinatura do prescriptor. <sup>2</sup>

Esta receita tem uma validade de 30 dias e podem ser prescritos até 4 medicamentos diferentes, sendo que no total não podem estar mais de 4 embalagens por receita e no máximo podem ser prescritas 2 embalagens do mesmo medicamento. <sup>2</sup>

Tendo em conta todos estes fatores, é fundamental uma atenção redobrada, pelo que mesmo depois de faturar, esta deve ser conferida para evitar qualquer erro.

Assim, tive a oportunidade, juntamente do farmacêutico responsável por esta tarefa, de conferir estas receitas, o que me permitiu ao mesmo tempo ter contacto com o nome dos medicamentos, e ainda com os múltiplos organismos de participação existentes.

## Receitas eletrônicas

O surgimento das receitas eletrônicas trouxe inúmeros benefícios tanto para os profissionais e organizações de saúde como para o utente.<sup>2</sup>

Na receita sem papel (RSP) é possível a prescrição de todos os produtos de saúde num único receituário, podendo optar por dispensar parte deles, o que possibilita levantar os restantes noutra farmácia se assim lhe interessar.

Neste tipo de receita é fornecido um Código de Acesso e de Dispensa apenas ao utente, para validar a dispensa dos medicamentos na farmácia, e um código de opção que, ao inserir no SI conseguimos ter acesso a informação, como os medicamentos prescritos, os que já foram levantados e a sua validade. Garantindo uma maior segurança no circuito de receitas no SNS.<sup>2</sup>

## Controlo de psicotrópicos e estupefacientes

Os medicamentos psicotrópicos e estupefacientes são caracterizados por atuarem diretamente no sistema nervoso central (SNC) como depressores ou estimulantes. Apesar dos seus efeitos benéficos em diversas doenças, apresentam alguns riscos como tolerância e dependência, necessitando de uma vigilância mais apertada.

Assim, a sua prescrição está sujeita a regras mais apertadas: os medicamentos devem ser prescritos isoladamente, numa receita materializada do tipo RE e LE numa receita desmaterializada.<sup>2</sup>

A sua dispensa só é feita mediante a apresentação do cartão de cidadão da pessoa que vem levantar a receita e a prescrição médica. No final do atendimento, são gerados 2 documentos, um corresponde à fatura e outro com a seguinte informação: o utente a quem se destina, quem adquiriu o medicamento e o médico prescritor. Este último é guardado na farmácia durante cerca de 3 anos.

## **3.2 - Pontos Fracos**

### **3.2.1 - Espaço físico**

A existência de um espaço limitado na sala de atendimento ao público, era um desafio para a gestão de *stock* e a sua organização. Sabendo que cada vez temos mais variedade de produtos, uma disposição funcional torna-se difícil de concretizar.

### **3.2.2 - Dificuldade na realização de atendimentos ao público**

Aquando do contacto com o público, senti alguns obstáculos para um atendimento eficiente, que incluíram a falta de experiência prévia no atendimento ao público, o facto de ainda não dominar completamente o SI, dificuldade em associar a denominação comum internacional (DCI) ao nome comercial do medicamento, a grande variedade de produtos de venda livre, a comunicação com o utente, desencadeando alguma insegurança durante o atendimento.

Durante a minha formação académica contactei maioritariamente com o nome da substância ativa, no entanto esta não é a realidade para a maioria das pessoas, estando mais familiarizadas com os nomes comerciais, o que colocava uma barreira na comunicação. Por vezes sabiam a substância ativa devido a consumirem o genérico, no entanto nem sempre se lembravam do nome do laboratório, referindo a cor da caixa e estando esta no *robot*, os farmacêuticos cada vez têm menos contacto com as caixas, e além disso, os laboratórios mudam frequentemente as cartonagens, pelo que se torna difícil esta tarefa, principalmente se não têm histórico de compra naquela farmácia.

Sabendo que o farmacêutico deve estar apto a responder a qualquer dúvida do utente, temos o apoio do SI, que nos dá acesso à informação científica de cada produto como indicações terapêuticas, contraindicações, posologias, interações, reduzindo gradualmente a lacuna existente no atendimento.

Assim, com o passar do tempo e com o auxílio dos restantes profissionais da FM, fui-me sentindo mais confiante e segura na comunicação com o utente. O facto de assistir a vários atendimentos realizados pelos outros colaboradores, foi muito benéfico para a minha aprendizagem, visto que me proporcionou obter uma perceção dos diferentes tipos de atendimentos, assim como saber interpretar os sintomas descritos pelos utentes e os possíveis produtos a aconselhar.

### **3.2.3 - Reduzida prática em contexto real ao longo do curso**

A responsabilidade principal do farmacêutico é para a saúde e o bem-estar do doente em geral e, no entanto, só temos contacto com este no último ano, o que torna complicado pôr em prática todos conhecimentos adquiridos. A meu ver, a existência de estágios curriculares ao longo do percurso académico constituiria uma vantagem, não só para consolidarmos conhecimentos e aprendermos a comunicar com os utentes, mas também para percebermos se dentro das saídas profissionais que MICF oferece, farmácia comunitária seria algo que nos despertasse interesse.

### **3.2.4 - Grande variedade de produtos**

Além dos medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM), a farmácia dispensa outros produtos, dos quais se incluem os produtos veterinários, homeopáticos, naturais, dispositivos médicos, suplementos alimentares e produtos de alimentação especial; produtos fitofarmacêuticos, produtos cosméticos e de higiene corporal, artigos de puericultura e produtos de conforto.<sup>3</sup>

Atualmente, existe uma preocupação crescente da sociedade com a saúde e bem-estar, temos consumidores mais informados. Deste modo, é de esperar que o mercado esteja em constante evolução, introduzindo novos produtos para atender às necessidades do utente. Por um lado, é bom para o consumidor, pois tem diversas opções de escolha, por outro lado, para os estagiários, acaba por ser difícil fazer o aconselhamento, visto que em algumas áreas o mercado encontra-se saturado, como é o caso dos produtos cosmético e os suplementos alimentares, e este pode não conseguir lembrar-se dos produtos existentes aquando do aconselhamento.

Desta forma, senti que como não tinha conhecimento de muitos produtos e marcas, não conseguia dar um atendimento completo e seguro. Claro que com a experiência e as contínuas formações que a farmácia me proporcionou fui melhorando nesta área. Contudo, considero que MICF nos poderia preparar melhor, pois apesar de termos disciplinas como Dermofarmácia e Cosmética, Fitoterapia, Indicação Farmacêutica, entre outras, que nos dão algumas bases nesta matéria, não acho que sejam suficientes, considerando a diversidade de produtos existente.

## **3.3 - Oportunidades**

### **3.3.1 - Serviços prestados - Realização de testes de antigénio à COVID-19**

A farmácia para além de constituir um local de dispensa de medicamentos e outros produtos, tem evoluído na prestação de serviços. Ao longo dos anos e mediante o meio envolvente, a farmácia comunitária foi alargando os seus serviços de promoção de saúde e bem-estar dos utentes.

A farmácia devido à sua acessibilidade e ampla distribuição geográfica constitui o local de saúde mais próximo do utente, pelo que este recorre com bastante facilidade, o que se refletiu durante a pandemia. Neste período a farmácia comunitária teve de se adaptar à nova realidade, de forma a dar continuidade aos seus serviços e a corresponder às necessidades dos consumidores.

Posto isto, perante as novas necessidades da sociedade, a farmácia passou a realizar autotestes e testes rápidos de antigénio (TRAg) com profissionais qualificados.

O facto de expandirem os seus serviços, permite dar a conhecer a uma elevada diversidade de utentes a farmácia, e visto que se deslocavam à farmácia para fazerem o teste, aproveitavam também para fazer outras compras, que por norma faziam noutra farmácia.

### **3.3.2 - Preparação de manipulados**

A preparação de manipulados é realizada segundo a Portaria n.º 594/2004 que aprova as boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados em farmácia de oficina e hospitalar e surge da necessidade de adaptar o tratamento a um determinado utente, quando não existe no mercado outra alternativa.<sup>4</sup>

Na FM tive a oportunidade de preparar o manipulado de vaselina salicilada a 10%, onde aprendi as operações de preparação, acondicionamento, rotulagem e o controlo de medicamentos manipulados nas instalações designadas para o efeito e com o material adequado. Além disso, existe documentação de suporte que descreve os passos para a correta preparação de manipulados. Há o preenchimento da sua ficha de preparação, onde são descritas as matérias-primas utilizadas, acompanhadas com o seu lote, fornecedor, a quantidade pesada e a validade do produto, e são ainda descritos os procedimentos de manipulação e o controlo de qualidade.<sup>4</sup>

O rótulo deve conter toda a informação necessária ao utente, devendo constar o seguinte: a denominação do medicamento e o teor em substância ativa, a quantidade dispensada, o n.º de lote atribuído, o prazo de utilização, as condições de conservação, as instruções especiais de utilização, a via de administração, posologia, identificação da farmácia, do diretor técnico e do utente.<sup>4</sup>

O cálculo do preço é estabelecido segunda a Portaria n.º 769/2004 e tem por base o valor dos honorários da preparação, no valor das matérias-primas e no valor dos materiais de embalagem. Por fim, deve-se proceder à sua dispensa e respetivo aconselhamento farmacêutico.<sup>5</sup>

Quando é solicitado um manipulado mais complexo, é a Farmácia Porto que fica encarregue, visto que dentro do grupo, é a que possui os materiais e equipamentos adequados.

### **3.3.3 - Cooperação entre farmácias - Grupo Still The Same**

Como referido anteriormente a FM encontra-se inserida num grupo de farmácias, o que permite entreajudarem-se e efetuarem compras em conjunto. Ao adquirirem uma elevada quantidade de produtos, têm a possibilidade de obter produtos a preços mais baixos, e conseqüentemente, venderem a um preço mais competitivo no mercado.

Para além disso, quando um utente pretende um produto, que naquele momento não há na farmácia, uma das alternativas é contactar uma farmácia do grupo que tenha naquele momento o produto. Esta cooperação é essencial para satisfazer ao máximo as necessidades dos utentes.

### **3.3.4 - Formações**

O farmacêutico tem de estar em constante atualização dos seus conhecimentos, pois estão sempre a surgir novos avanços na ciência e, conseqüentemente, novos produtos no mercado.

A meu ver, estas formações são cruciais para consolidarmos conhecimentos e prestarmos um atendimento capaz de satisfazer as necessidades da população.

Tive, assim, a oportunidade de assistir a uma vasta gama de formações dadas por delegados de informação médica, que nos apresentavam os seus produtos novos, recordavam os já existentes e o que os diferenciava de outros produtos semelhantes no mercado. A maioria das formações que assisti foram na farmácia, no entanto também pude assistir a uma formação externa, na qual há a possibilidade de contactar com outros profissionais de saúde.

Além disso, como não estava familiarizada com as marcas e muitos dos produtos existentes no mercado, estas formações foram sem dúvida cruciais para obter e consolidar conhecimentos, permitindo-me sentir mais segura durante o aconselhamento.

## **3.4 - Ameaças**

### **3.4.1 – Parafarmácias**

As parafarmácias são locais destinados à venda de MNSRM que se distribuem por todo o país. Estes estabelecimentos conseguem, por vezes, obter preços mais competitivos.

Uma vez que a FM se encontra no *shopping*, também aí podemos encontrar uma parafarmácia, e sabendo dos preços de ambos, os utentes vão preferencialmente deslocar-se ao local mais barato, que por norma estão nas parafarmácias. Neste sentido, é importante

que a farmácia se diferencie, isto é, crie formas de se destacar, ganhando, dessa forma vantagens em relação às parafarmácias.

### **3.4.2 - Produtos esgotado**

Ao longo do meu estágio fui-me apercebendo de uma serie de produtos esgotados o que constituía um transtorno para o utente, que uma vez habituado àquele laboratório, não se sentia confortável em aderir a outro. Este problema vai influenciar na terapêutica, visto que os utentes nem sempre aderem a outros laboratórios por sentirem alguma desconfiança.

O que torna também esta situação uma ameaça, para além da possível falha na terapêutica é a falta de compreensão por parte dos utentes, que muitas vezes responsabilizam a farmácia.

### **3.4.3 - Utentes**

A atitude do utente durante o atendimento, por vezes não permite o aconselhamento adequado às suas necessidades. Tem-se como exemplo um utente que se dirige à farmácia e pede imediatamente o que pretende e o farmacêutico deve tentar perceber para que efeito é. No entanto, o utente nem sempre se encontra recetivo para que o farmacêutico lhe explique o benefício de outros produtos mais adequados à sua situação, usando argumentos como “um amigo usou e diz que é bom” ou “vi na televisão”, entre outros, comprovando, uma vez mais, o papel do farmacêutico no uso responsável dos medicamentos.

Outro aspeto negativo, é o facto de haver pouca confiança no estagiário, por acharem que não estão à altura do pretendido ou por terem mais à vontade com outros elementos da equipa.

Há também uma grande falta de conhecimento dos utentes em relação aos medicamentos genéricos, o que gera algum ceticismo em relação a este tema. Tendo o utente a opção de escolha, cabe ao farmacêutico explicar-lhe as suas opções, o que leva a uma grande confusão, pois estes não percebem o significado desta escolha, ou qual a diferença, julgando que o médico já tinha “escolhido”.

## 4 - Casos Clínicos

### Caso 1:

Uma utente queixa-se de ter bastante refluxo e mau estar desde há uns dias, e refere ainda que os sintomas são provenientes do consumo de alimentos já estragados.

Sabendo que a sintomatologia teve origem possivelmente em alimentos contaminados e que não fazia medicação habitual, aconselhei-lhe a toma de Chologutt A<sup>®</sup>. O Chologutt A<sup>®</sup> é muito aconselhado nos sintomas de má digestão, uma vez que possui na sua constituição os seguintes componentes:

- A alcachofra vai aumentar a secreção biliar, estimula a motilidade intestinal e a metabolização das gorduras, o que leva a efeitos benéficos em dispepsias não ulcerosas e em irritações intestinais;
- A alfazema possui propriedades antissépticas e facilita a digestão;
- O cardomariano é hepatoprotetor, vai permitir o normal funcionamento das células hepáticas. Apresenta atividade antioxidante que previne a destruição dos lípidos da membrana celular hepática;
- A hortelã-pimenta: as suas propriedades antiespasmódicas vão proporcionar um maior alívio dos espasmos digestivos e biliares.

Deve ser tomado preferencialmente 30 minutos antes das refeições 10-15 gotas misturadas com água, 3 a 4 vezes ao dia, adicionalmente deve evitar a ingestão de refeições volumosas e com muita gordura, até à melhoria dos sintomas.

### Caso 2:

Uma utente com cerca de 30 anos desloca-se à farmácia e solicita algo para os enjoos, visto que vai fazer uma viagem longa e é comum sentir-se enjoada.

Desta forma, questioneei-lhe se está a tomar medicação habitual, respondendo-me que não. Assim, recomendei-lhe o Vomidrine<sup>®</sup>, visto que tem como substância ativa o dimenidrinato que possui efeitos parassimpaticolíticos e depressores centrais do sistema vestibular central associado ao centro do vômito.<sup>6</sup>

Deve ser tomado 1 a 2 comprimido 30 minutos antes da viagem, podendo ser repetida a administração 3 a 4 vezes ao dia. Recomendei ainda várias medidas não farmacológicas, como evitar alimentos gordos e irritantes para o estômago, comer em pequenas quantidades, começando por alimentos líquidos e frios.<sup>6</sup>

### Caso 3:

Uma utente solicita algo para a caspa, pelo que lhe pergunto se era uma caspa solta ou com placas e com que frequência lavava o cabelo.

Com isto, conseguimos perceber se se trata de uma caspa seca ou oleosa e direcionar para um tratamento mais apropriado. A caspa seca caracteriza-se por ser muito solta, provocando algum prurido, assim é importante que o champô seja mais hidratante. A caspa oleosa forma placas no couro cabeludo e, portanto, deve-se usar um champô que também trate a oleosidade.

Visto que me referiu que se tratava de uma caspa seca, aconselhei-lhe o champô da Ducray Kelual DS que tem na sua constituição piritionato de zinco com propriedades fungistáticas e bacteriostáticas e que juntamente com os restantes ingredientes vão proporcionar a diminuição da caspa, acalmar a vermelhidão e suavizar o prurido.<sup>7</sup>

Este champô deve ser utilizado 2 vezes por semana, pelo que se a utente habitualmente lavar mais vezes, deve utilizar um champô suave nos restantes dias.

#### **Caso 4:**

Um senhor com cerca de 40 anos desloca-se à farmácia e solicita algo para o *stress* e cansaço, referindo ainda que se tem sentido mais em baixo.

Assim, tentei recomendar-lhe um suplemento que contivesse *Rhodiola rosea*, pois tem propriedades adaptogénicas e ajuda a otimizar a resposta do organismo ao *stress* e 5-HTP, é um aminoácido produzido pelo corpo e que é utilizado na produção de serotonina, resultando na regulação do humor.

Desta forma, aconselhei o Absorvit Smart Neuro, podendo ser tomada 1 cápsula por dia ao pequeno-almoço.

#### **Caso 5:**

Um utente solicita um xarope para a tosse, pelo que lhe questiono se é uma tosse seca ou com expetoração, ao qual ele me responde que pensa que é seca, mas não tem a certeza.

De seguida perguntei se era diabético, como me respondeu que não, sugiro-lhe o grinTuss, visto que contem constituintes (mel, complexo molecular de resinas, polissacáridos e flavonoides de grindélia, tanchagem e helicriso) que vão atuar nos dois tipos de tosse. Como se trata de um dispositivo médico, forma uma película protetora que adere à mucosa e a protege do contacto com os agentes irritantes, logo não se deve ingerir alimentos após a toma para que este faça efeito. Possui ainda uma ação muco-reguladora através da hidratação do muco e lubrificante, reduzindo a fricção da faringe, acalmando, desta forma a tosse. Pode ser tomado 2 colheres 4 vezes ao dia. Adicionalmente, o utente deve ingerir grandes quantidades de água, de modo a manter as mucosas hidratadas e evitar ambientes que contenham poeiras.

## **5 - Considerações Finais**

A conclusão de MICF é caracterizada pela frequência do estágio curricular em farmácia comunitária, que constituiu o momento de pôr em prática os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do curso em contexto real, sendo essencial para a formação do futuro farmacêutico.

O contacto com a realidade da farmácia comunitária permitiu-me confirmar a responsabilidade que o farmacêutico tem na saúde e bem-estar da sociedade. A profissão farmacêutica vai muito para além de aviar receitas, e tem vindo a evoluir conferindo-lhe responsabilidades diferenciadas com o objetivo de corresponder às novas necessidades do cidadão e da sociedade.

Este estágio contribuiu imenso para a minha aprendizagem e para adquirir novas competências, que só foram possíveis com a ajuda dos colaboradores da FM, que se mostraram sempre disponíveis para esclarecerem as minhas dúvidas.

Só tenho de agradecer a toda a equipa técnica da FM, por me terem acompanhado neste processo e por todos os conhecimentos transmitidos. Sem dúvida, que este estágio foi importante para me sentir confiante e preparada para o meu futuro profissional.

## 6 - Referências Bibliográficas

- 1- ORDEM DOS FARMACEUTICOS - **Normas relativas à dispensa de medicamentos e produtos de saúde.** [Acedido a 20 de junho de 2022]. Disponível na internet: [https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/of.c\\_n004\\_00\\_norma\\_especifica\\_sobre\\_dispensa\\_de\\_medicamentos\\_e\\_produtos\\_de\\_sauyde\\_5214920525afd9c8445f2c.pdf](https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/of.c_n004_00_norma_especifica_sobre_dispensa_de_medicamentos_e_produtos_de_sauyde_5214920525afd9c8445f2c.pdf)
- 2- INFARMED, I.P. - **Normas relativas à prescrição de medicamentos e produtos de saúde.** [Acedido em 20 de junho de 2022]. Disponível na internet: [https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Normas\\_Prescri%C3%A7%C3%A3o/bcd0b378-3b00-4ee0-9104-28d0db0b7872](https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Normas_Prescri%C3%A7%C3%A3o/bcd0b378-3b00-4ee0-9104-28d0db0b7872)
- 3- ORDEM DOS FARMACEUTCOS -**Norma geral sobre o medicamento e produtos de saúde.** [Acedido em 20 de junho de 2022]. Disponível na internet: [https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/norma\\_geral\\_sobre\\_o\\_medicamento\\_e\\_produtos\\_de\\_saude\\_165355005ab148048a252.pdf](https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/norma_geral_sobre_o_medicamento_e_produtos_de_saude_165355005ab148048a252.pdf)
- 4- INFARMED – **Portaria nº594/2004, 2 de Junho.** [Acedido a 20 de junho de 2022]. Disponível na internet: [https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/portaria\\_594-2004.pdf/d8b8cac3-3250-4d05-b44b-51c5f43b601a](https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/portaria_594-2004.pdf/d8b8cac3-3250-4d05-b44b-51c5f43b601a)
- 5- INFARMED – **Portaria n.º 769/2004, de 1 de Julho.** [Acedido a 20 de junho de 2022]. Disponível na internet: [https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/portaria\\_769-2004.pdf/a0b1c512-ac77-42d4-9b06-8b1f3da9fb4d](https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/portaria_769-2004.pdf/a0b1c512-ac77-42d4-9b06-8b1f3da9fb4d)
- 6- INFARMED – **Resumo das Características do Medicamento** - Vomidrine 50 mg comprimido
- 7- DUCRAY - **Kelual DS champô de tratamento** - [Acedido a 20 de junho de 2022]. Disponível na internet: <https://www.ducray.com/pt-pt/kelual-ds/kelual-ds-champo>

# PARTE II

## RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM CONSULTORIA FARMACÊUTICA

Sob a orientação da Dra. Rita Henriques



## **Lista de Abreviaturas**

**AIM** - Autorização de introdução no mercado

**CSI** - *Core Safety Information*

**DCP** - Procedimento Descentralizado

**EMA** - *European Medicines Agency / Agência Europeia do Medicamento*

**FFUC** - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

**FI** - Folheto Informativo

**IPN** - Instituto Pedro Nunes

**MedDRA** - *Medical Dictionary for Regulatory Activities*

**MICF** - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**MRP** - Procedimento de Reconhecimento Mútuo

**QRD** - *Quality Review of Documents*

**RAM** - Reação Adversa Medicamentosa

**RCM** - Resumo das Características do Medicamento

**ROT** - Rotulagem

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

**XEVMPD** - *eXtended EudraVigilance Medicinal Product Dictionary*

## **I - Introdução**

O ato farmacêutico tem sofrido enormes mudanças ao longo dos tempos, tendo-se diversificado e especializado noutras áreas. Por isso mesmo, o curso de Mestrado Integrado em Ciências farmacêuticas (MICF) na Faculdade de Farmácia da universidade de Coimbra (FFUC) apresenta disciplinas aprofundadas noutras áreas que conferem competências para farmácia comunitária e hospitalar, indústria farmacêutica, química e alimentar, análises clínicas, assuntos regulamentares relacionados com o medicamento e produtos de saúde, bem como outras ligadas ao doente, medicamento e saúde pública.<sup>1</sup> Além disso, possibilita a realização de estágios noutras áreas que não o estágio obrigatório em farmácia comunitária, permitindo desse modo perceber o que mais nos interessa no mundo farmacêutico.

Assim sendo, e tendo em conta que a área de Assuntos Regulamentares me despertava algum interesse, optei pelo estágio na Owlpharma – Consulting Lda., doravante designada Owlpharma, que se encontra sediada em Coimbra, com o intuito de perceber a realidade do trabalho nesta área.

Este estágio decorreu entre 2 de maio e 29 de julho nos escritórios localizados na Avenida da Guarda Inglesa, sob a orientação da Dra. Rita Henriques.

Neste relatório vou descrever o meu percurso na Owlpharma através de uma análise SWOT, fazendo uma ponte entre os conteúdos teóricos, assimilados nas aulas, e a prática profissional.

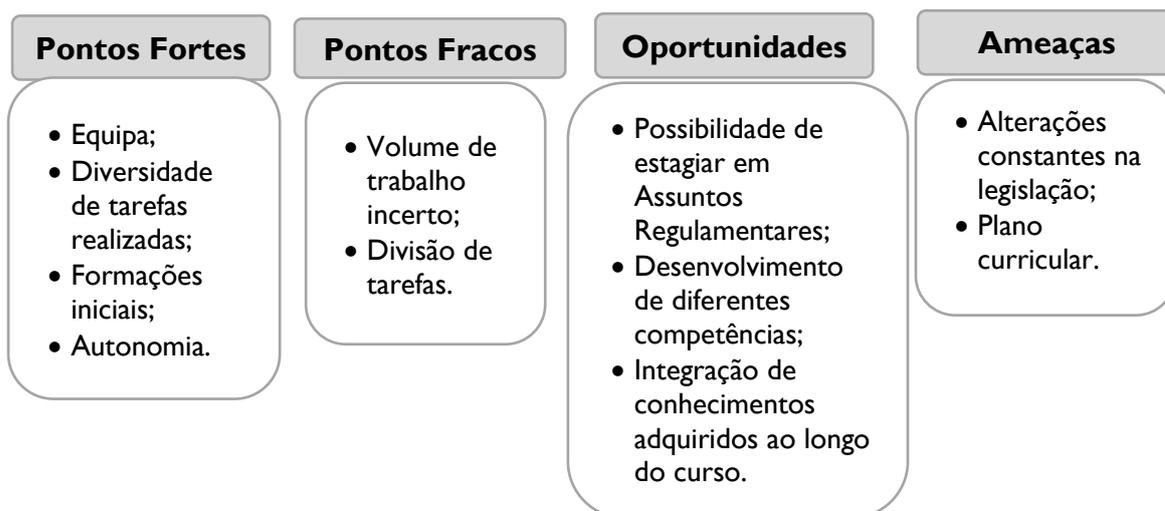
## **2 - OWLPHARMA – CONSULTING, LDA.**

A Owlpharma é uma empresa de consultoria farmacêutica fundada em 2013, tendo iniciado o seu percurso no Instituto Pedro Nunes (IPN), uma instituição privada sem fins lucrativos localizada em Coimbra que promove a criação de empresas inovadoras e de base tecnológica.<sup>2,3</sup> A Owlpharma é uma empresa inovadora, focada no cliente e cujo objetivo é oferecer novas soluções para as necessidades emergentes da indústria.<sup>2</sup>

Os seus serviços estão direcionados para os setores de Farmacovigilância, Assuntos Regulamentares, Garantia da Qualidade e Assuntos Médicos e Científicos com profissionais multidisciplinares e altamente qualificados. Os responsáveis de cada uma destas áreas são a Dra. Mariana Rocha, a Dra. Ana Andrade, o Dr. André Luz e a Dra. Lígia Ferreira, respetivamente.<sup>4</sup>

Uma vez que as atividades supramencionadas compreendem todo o ciclo de vida dos produtos de saúde e do medicamento, foi-me permitido realizar diversas tarefas.<sup>2</sup>

### 3 - Análise SWOT



**Fig. 1:** Análise SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

#### 3.1 - Pontes Fortes

##### 3.1.1 - Equipa

A existência de uma equipa coesa que se entreaajuda é sempre propício a um bom ambiente, o que me permitiu sentir à vontade para colocar todas as minhas dúvidas. Além disso, caracteriza-se por ser uma equipa bastante jovem, o que se aproxima da realidade do estagiário, uma vez que estiveram na mesma situação há relativamente pouco tempo. Assim, compreendem melhor as dificuldades que possamos ter. Por esta razão senti-me rapidamente integrada na dinâmica de trabalho.

##### 3.1.2 - Diversidade de tarefas realizadas

Apesar de ter ficado no departamento de Assuntos Regulamentares, podia desempenhar tarefas de outros departamentos, caso estas fossem mais urgentes. Assim, foi-me possível conhecer um pouco do departamento de Assuntos Médicos e Científicos, onde pude realizar algumas traduções de textos, testes de legibilidade e suporte na elaboração de adendas clínicas.

Em relação ao departamento de Assuntos Regulamentares, desempenhei, entre outras, as seguintes tarefas: traduções de Resumos das Características do Medicamento (RCMs), Folhetos Informativos (FIs) e Rotulagens (ROTs) de inglês para português ou vice-versa seguindo o *template Quality Review of Documents (QRD)* mais atualizado disponível no site da Agência Europeia do Medicamento (EMA); alterações aos termos da Autorização de Introdução no Mercado (AIM), com foco nas alterações de segurança tipo IB, nas quais

recorri a ferramentas como a plataforma SMUH-ALTER; comparação de *Core Safety Information* (CSI); atualização de dados na plataforma *eXtended EudraVigilance Medicinal Product Dictionary* (XEVMPPD).

Considero que todas estas tarefas me permitiram aprofundar alguns conhecimentos adquiridos em Assuntos Regulamentares do Medicamento, ganhar novas competências e compreender o papel do farmacêutico nesta área.

### **3.1.3 - Formações iniciais**

No início do meu estágio tive a possibilidade de assistir a várias formações para compreender o funcionamento da empresa e as suas áreas de atuação. Além de formações iniciais, ainda me concederam formações no decorrer do estágio.

Deste modo, recebi formações de Assuntos Regulamentares realizadas pelo Dr. Frederico Nunes, que se intitulam “Alterações aos termos da AIM – Procedimentos Nacional, Descentralizado (DCP) e Reconhecimento Mútuo (MRP)”;

“Submissão de renovações de AIM por procedimento nacional, DCP e MRP” e ainda “Preparação da informação do produto: RCM, FI e ROT”, feita pela Dra. Rita Agrela.

A Dra. Sara França deu uma formação inicial em Farmacovigilância, na qual revelava a sua importância e os conceitos importantes, como Reação Adversa Medicamentosa (RAM), quem a pode submeter, assim como os prazos a cumprir na submissão de uma RAM.

Para além disso, os colaboradores da Owlpharma, antes de me passarem qualquer tarefa, explicaram-me como a deveria elaborar e as ferramentas a utilizar.

Estas formações foram cruciais para a realização das tarefas durante o estágio, visto que me senti mais preparada e pude fazer de forma mais autónoma as atividades propostas.

### **3.1.4 - Autonomia**

Antes da realização de uma tarefa eram-me fornecidas orientações e quando as terminava eram revistas por algum elemento da equipa. No entanto, durante a sua realização, sempre foi fomentada a autonomia, sendo fundamental para a minha aprendizagem, desenvolvimento de competências e espírito crítico.

## **3.2 - Pontos Fracos**

### **3.2.1 - Volume de trabalho incerto**

A Owlpharma, sendo uma empresa de consultoria, está dependente dos pedidos de clientes, e por isso é comum que a carga de trabalho sofra flutuações. Desta forma, havia alturas com mais ou menos cedência de tarefas. Além disso, muitas tarefas pendentes eram complexas ou exigiam acesso a redes específicas de clientes, pelo que por vezes não eram fornecidas aos estagiários.

Sendo assim, houve momentos em que senti dificuldade em gerir o tempo de estágio e a prioridade entre tarefas, constituindo, desta forma, um ponto fraco.

### **3.2.2 - Divisão de tarefas**

A maioria das tarefas que realizei constituíram alterações aos termos da AIM e comparações de CSIs, pois eram as tarefas mais abundantes e com prazos curtos. No entanto, houve outras tarefas que não tive a oportunidade de realizar, como por exemplo no âmbito da Farmacovigilância. Como tal, não pude obter nenhum conhecimento para além do lecionado nas aulas, nem ter noção das tarefas realizadas.

## **3.3 - Oportunidades**

### **3.3.1 - Possibilidade de estagiar em Assuntos Regulamentares**

Como já referido, a profissão farmacêutica vai muito para além de farmácia comunitária, pelo que é fundamental a existência de estágios noutras áreas. O facto de ter a possibilidade de estagiar em Assuntos Regulamentares deu-me novos conhecimentos e competências que, de outra forma, não teria acesso. Permitiu-me ainda entrar em contacto com outros profissionais com diferentes experiências e ponderar as minhas opções profissionais no futuro.

### **3.3.2 - Desenvolvimento de diferentes competências**

O facto de ter desempenhado diversas funções permitiu-me obter também diversas competências tais como:

- Domínio da língua inglesa: Muitas das tarefas que tinha de realizar envolviam o conhecimento e domínio da língua inglesa, permitindo que praticasse e aprendesse termos mais específicos. A língua inglesa é fundamental para negócios que envolvam outros países e para uma boa comunicação.

- Competências informáticas: As tarefas foram efetuadas maioritariamente no Word e, apesar de ser uma ferramenta com a qual já me encontrava familiarizada, pude descobrir novas funcionalidades que tornaram o meu trabalho muito mais prático. Além disso, pude contactar com plataformas como o SMUH-ALTER do INFARMED; o *Medical Dictionary for Regulatory Activities* (MedDRA) e sites como o da EMA. Estas plataformas foram essenciais para a realização das tarefas.
- Rigor nas tarefas: Todas as tarefas realizadas primavam pelo rigor e minuciosidade, que ao longo do tempo fui adquirindo, aliados a uma boa gestão do tempo.

### **3.3.3 - Integração de conhecimentos adquiridos ao longo do curso**

O curso de MICF apresenta no seu plano de estudos a unidade curricular de Assuntos Regulamentares do Medicamento que, embora não substitua os conhecimentos obtidos pela prática profissional, permite a aquisição de noções teóricas na área úteis para colocar em prática aquando do estágio.

## **3.4 - Ameaças**

### **3.4.1 - Alterações constantes na legislação**

Para a realização das tarefas em Assuntos Regulamentares, é necessário acompanhar a legislação em vigor naquele momento. Estando esta em constantes atualizações, é essencial estarmos atentos e mantermo-nos atualizados para garantir a qualidade dos serviços prestados.

Desta forma, o que aprendi neste estágio pode não ser igual no futuro, até porque existe uma progressão contínua no mercado farmacêutico, que está em constante evolução, e os profissionais devem acompanhar esta evolução.

### **3.4.2 - Plano curricular**

As áreas de atuação da Owlpharma são abordadas em algumas unidades curriculares no decorrer do curso, como é o caso de Assuntos Regulamentares do Medicamento, Farmacovigilância e Gestão e Garantia da Qualidade. No entanto, apesar destas unidades curriculares revelarem uma enorme importância, não me sentiria suficientemente preparada para seguir essas áreas, caso não tivesse a opção de realizar este estágio. Sendo assim, e tendo em conta que cada vez mais estudantes seguem áreas alternativas à farmácia comunitária, acho importante haver um maior enquadramento das aulas em contexto real, pois só assim conseguimos compreender o trabalho realizado nestes setores.

#### **4 - Conclusão**

Ao terminar este estágio, sinto que a experiência obtida na Owlpharma me proporcionou conhecimentos fulcrais para no futuro ter uma opinião mais fundamentada e, assim, decidir a área profissional mais adequada às minhas competências.

Apesar da FFUC nos ter fornecido alguns conceitos teóricos, a possibilidade de os pôr em prática é essencial, pois só assim conseguimos perceber realmente o funcionamento do mercado farmacêutico e a rotina de uma consultoria farmacêutica. O facto de ter realizado várias tarefas com a ajuda de diferentes colaboradores da equipa permitiu-me ganhar competências e metodologias de trabalho diferentes, o que tornou esta experiência muito enriquecedora e completa.

Só me resta agradecer à FFUC por me proporcionar este estágio e à Owlpharma e a toda a sua equipa pela disponibilidade prestada e todos os conhecimentos transmitidos, que vão ser determinantes para o meu desempenho profissional.

## 5 - Referências Bibliográficas

- 1- Universidade de Coimbra - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. [Acedido a: 8 de agosto de 2022]. Disponível em: <https://apps.uc.pt/courses/PT/course/1172/2022-2023>
- 2- Owlpharma – Consulting, Lda. - Sobre nós. [Acedido a: 8 de agosto de 2022]. Disponível em: <http://www.owlpharma.pt/sobre-nos/?lang=pt-pt>
- 3- Instituto Pedro Nunes – Incubadora de Empresas. [Acedido a: 8 de agosto de 2022]. Disponível em: <https://www.ipn.pt/incubadora>
- 4- Owlpharma – Consulting, Lda. – Equipa. [Acedido a: 8 de agosto de 2022]. Disponível em: <https://www.owlpharma.pt/team>

# **PARTE III**

Monografia

**“O POTENCIAL TERAPÊUTICO DOS NEUROESTEROIDES NO  
ACIDENTE VASCULAR ISQUÊMICO”**

Sob a orientação do Professor Doutor Alcino Leitão

## Lista de Abreviaturas

**3 $\alpha$ -HSD** - 3alfa-hidroxisteroides dehidrogenase

**3 $\beta$ -HSD** - 3 beta-hidroxiesteroide desidrogenase

**5 $\alpha$ -R** - 5 $\alpha$ -Redutase

**ACTH** - Hormona Adrenocorticotrófica

**AKT**- Proteína Quinase B

**alloP** - Alopregnanolona

**AMPA** - Propionato de  $\alpha$ -Amino-3-Hidroxi-5-Metilisoxazol

**AMPAR** - Recetor do Propionato de  $\alpha$ -Amino-3-Hidroxi-5-Metilisoxazol

**AVC** - Acidente Vascular Cerebral

**BDNF** - Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro

**BHE** - Barreira Hematoencefálica

**CREB** - Proteína de Ligação ao Elemento de Resposta do cAMP

**DHEA** - Dehidroepiandrosterona

**DHEAS** - Sulfato de Dehidroepiandorsterona

**E2** - Estradiol

**ERE** - Elementos de Resposta ao Estrogénio

**ERK** - Quinase Regulada por Sinal Extracelular

**Er $\alpha$**  - Recetor de Estrogénio  $\alpha$

**Er $\beta$**  - Recetor de Estrogénio  $\beta$

**GABA** - Ácido Gama -Aminobutírico

**GABA<sub>A</sub>R** - Recetor do Ácido Gama-Aminobutírico tipo A

**GLT-I** - Transportador glial do glutamato

**GPR30** - Recetor acoplado à proteína G

**GX** - Ganaxolona

**iNOS** - Óxido Nítrico Induzível

**LCR** - Líquido Cefalorraquidiano

**LH** - Hormona Luteinizante

**MAPK** - Proteína Quinase Ativada por Mitogénio

**MCAO** - Oclusão da Artéria Cerebral Média

**mPR** - Recetor Membranar da Progesterona

**NAM** - Modeladores Alostéricos Negativos

**NMDA** - N-Metil-D-Aspartato

**NMDAR** - Recetor N-Metil-D-Aspartato

**NR2B** - Subunidade 2B do Recetor NMDA

**NS** - Neuroesteroide

**P450scc** - Enzima de Clivagem da Cadeia Lateral

**PAM** - Modeladores Alostéricos Positivos

**PAS** - Sulfato de Pregnanolona

**PGRMCI** - Componente I Associado ao Recetor de Membrana da Progesterona

**PI3K** - Fosfatidilinositol 3-Quinases

**PKA** - Proteína Quinase A

**PKC** - Proteína Quinase C

**PR** - Recetores da Progesterona

**PREG** - Pregnenolona

**PREs** - Elementos de Resposta da Progesterona

**PROG** - Progesterona

**ROS** - Espécies Reativas ao Oxigénio

**SNC** - Sistema Nervoso Central

**StAR** - Proteína Reguladora Esteroidogénica Aguda

**THDOC** - Alotetrahydroxicorticosterona

**THS** – Terapia Hormonal de Substituição

**TSPO** - Proteína Translocadora

**σIR** - Recetor Sigma I

## **Resumo**

Os neuroesteroides podem ser subdivididos em neuroesteroides naturais, representando aqueles que são produzidos no cérebro, e em neuroesteroides sintéticos.

A atenção cedida aos neuroesteroides tem crescido devido às suas ações na regulação das funções cerebrais, pelo que foi considerado como potencial terapêutica no acidente vascular cerebral.

O AVC constitui uma das principais causas de morte e de incapacidade, uma vez que podem surgir complicações pós AVC, como distúrbios cognitivos, desenvolvimento de demência, epilepsia, entre outros. Posto isto, torna-se crucial encontrar novos tratamentos eficazes.

O conhecimento dos mecanismos que levam à isquemia cerebral são muito importantes para um correto tratamento, e visto que a resposta inflamatória desempenha um papel fulcral na patogénese do AVC, vai assim, também constituir um possível alvo terapêutico.

Assim, vários estudos realizados com os neuroesteroides comprovam a sua relevância nesta área.

Para melhor compreendermos como exercem as suas ações neuroprotetoras, esta monografia vai abordar a sua biossíntese e os seus mecanismos de ação com foco nos recetores que vão atuar na isquemia.

**Palavras-chave:** Neuroesteroides, Acidente Vascular Cerebral, Isquemia Cerebral, Inflamação, Neuroproteção.

## **Abstract**

Neurosteroids can be subdivided into natural neurosteroids, representing those produced in the brain, and synthetic neurosteroids. The attention given to neurosteroids has grown due to their actions in the regulation of brain functions, which is why it was considered as a therapeutic potential in stroke.

Stroke is one of the main causes of death and disability, once post-stroke complications such as cognitive disorders, development of dementia, epilepsy, among others, can arise. That said, it becomes crucial to find new effective treatments.

Knowledge of the mechanisms that lead to cerebral ischemia are very important for an accurate treatment and since the inflammatory response plays a pivotal role in the pathogenesis of stroke, it will also constitute as a possible therapeutic target.

Therefore, several studies have been carried out with neurosteroids that prove their relevance in this area.

To better understand how they exert their neuroprotective actions, this monograph will address their biosynthesis and their mechanisms of action, focusing on the receptors that will act in ischemia.

**Keywords:** Neurosteroids, Stroke, Cerebral Ischemia, Inflammation, Neuroprotection.

## I - Introdução

O termo neuroesteroide (NS) foi introduzido em 1981, para designar esteróides sintetizados no cérebro, através do colesterol ou outros precursores de hormonas esteróides, via progressivas reduções do Anel-A, independentemente das glândulas endócrinas esteroidogénicas periféricas. São também designados de esteróides neuroativos, uma vez que conseguem regular as funções neuronais.<sup>1,2</sup>

O funcionamento cerebral está dependente do balanço entre a excitação e a inibição, e como os NSs possuem a capacidade de influenciar a transmissão sináptica através da sua interação com recetores nucleares ou membranares, dos quais se podem incluir os recetores de neurotransmissores, como o recetor N-metil-D-aspartato (NMDA) e o recetor do ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), têm vindo a despertar grande interesse clínico.<sup>3,4</sup>

Algumas das funções dos NSs incluem promover a mielinização, o desenvolvimento cerebral, diferenciação e maturação neuronal, proteção neuronal, anti-ansiedade, anti-depressão, anti-epilepsia. São muito importantes em várias doenças neurológicas, das quais se incluem o Acidente Vascular Cerebral (AVC) e as suas possíveis complicações. Dado as limitações de tratamento que existem atualmente nesta área, os NSs podem vir a constituir uma futura terapêutica como agentes protetores contra lesões celulares após a isquemia.<sup>5,6</sup>

O AVC é das principais causas de morte e de incapacidade em todo o mundo, sendo o AVC isquémico o mais comum. É uma doença neurológica caracterizada pelo bloqueio dos vasos sanguíneos, isto é, coágulos que se formam no cérebro e interrompem o fluxo sanguíneo, provocando a obstrução das artérias e rutura dos vasos sanguíneos, levando a hemorragias. Isto resulta na morte súbita de células cerebrais devido à falta de oxigénio.<sup>7</sup>

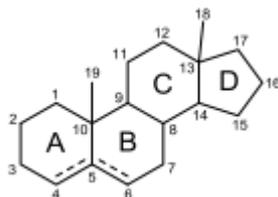
Após a isquemia cerebral ocorrem vários eventos fisiopatológicos, também designados de cascatas isquémicas, que compreendem fases dependentes do tempo, como a excitotoxicidade, depleção de energia e conseqüentemente morte celular. O uso de agentes neuroprotetores pode bloquear alguns aspetos desta cascata isquémica.<sup>6</sup>

Adicionalmente, os NSs sintéticos, como a ganaxolona (GX), têm sido muito estudados devido a apresentarem maior biodisponibilidade e eficácia, o que os torna ótimos candidatos farmacológicos para o tratamento de vários distúrbios do sistema nervoso central (SNC).<sup>8</sup>

Posto isto, esta monografia vai abordar com maior detalhe os NSs mais abundantes e bem estudados como os estrogénios, a progesterona e os seus metabolitos, a sua síntese, os mecanismos de ação e alguns estudos clínicos como potencial tratamento no AVC.<sup>8</sup>

## 2 - Caracterização dos neuroesteroides

Tal como acontece com outros esteróides, a estrutura central dos NSs é representada por um esterano ou ciclopentanoperidrofenantreno.<sup>9</sup>



**Fig.1:** Nomenclatura dos esteróides, constituído por três anéis ciclohexanos (A, B, C) e um anel ciclopentano (D), formando uma molécula tetracíclica unida por 17 carbonos (Adaptado da referência 10)

De acordo com as características estruturais podem ser classificados como:

- Neuroesteroides sulfatados (sulfato de pregnanolona e sulfato de dehidroepiandrosterona)
- Neuroesteroides da série pregnano (alopregnanolona (alloP) e alotetrahidroxicorticosterona (THDOC))
- Neuroestroides da série androstano (androstane diol, eticolanolona)<sup>11</sup>

A primeira classe exerce efeitos excitatórios, enquanto as duas últimas desempenham papéis inibitórios.<sup>12</sup> A classe dos pregnanos tem despertado especial interesse pela sua modulação alostérica no recetor do ácido gama-aminobutírico tipo A (GABA<sub>A</sub>R).<sup>13</sup>

Observou-se que a produção de NSs e a sua concentração no plasma sofria flutuações e que eram acompanhadas por vários sintomas, pelo que se concluiu que os níveis de NSs estão alterados em função de uma variedade de cenários fisiológicos (como na puberdade, na gravidez, no stress e no ciclo menstrual) e patológicos (como na depressão, na tensão pré-menstrual, nos ataques de pânico e na esquizofrenia).<sup>14</sup> A monitorização dos níveis de NSs no plasma sanguíneo ou no líquido cefalorraquidiano (LCR) podem ser bons indicadores de processos patológicos que estejam a ocorrer no sistema nervoso.<sup>9</sup> As concentrações sanguíneas periféricas de NSs podem não corresponder às concentrações dos NSs no cérebro, no entanto, o facto de haver um aumento na concentração sanguínea, quer também dizer que há um aumento no cérebro. Para além disso, os NSs conjugados são compostos hidrofílicos, e não atravessam a Barreira Hematoencefálica (BHE), logo os valores no sangue periférico encontram-se diminuídos em relação aos níveis cerebrais.<sup>15</sup>

Os NSs têm a capacidade de influenciar as funções do SNC, principalmente pela modulação alostérica dos GABA<sub>A</sub>Rs ou dos recetores N-Metil-D-Aspartato (NMDA). Além destes recetores, os NSs quando em elevadas concentrações também atuam noutros sistemas de recetores como os nicotínicos, acetilcolina, serotonina 5-HT<sub>3</sub>, e os recetores

$\sigma 1$ .<sup>10</sup> Os GABA<sub>A</sub>Rs, têm sido considerados como o alvo mais importante para a ação dos NSs.<sup>13</sup>

A ação dos NSs nestes recetores pode ser agonista ou antagonista, podendo-se designar como modeladores alostéricos positivos (PAM) ou modeladores alostéricos negativos (NAM).<sup>10</sup>

São também designados de esteróides neuroativos, visto que esta classe compreende todos os compostos à base de esteróides que conseguem agir sobre o SNC, incluindo, desta forma, os NSs.<sup>9</sup> Assim, podem potencialmente influenciar a sinalização neuronal em várias situações fisiológicas e patológicas.

Deste modo, os NSs podem fornecer oportunidades para novas abordagens terapêuticas.

### **3 - Biossíntese dos neuroesteroides**

Inicialmente pensava-se que apenas se produziam esteróides a partir das glândulas endócrinas como as adrenais e os ovários, sendo necessário atravessarem a BHE para influenciarem a atividade neuronal. Posteriormente, descobriu-se que o próprio sistema nervoso pode sintetizar esteróides *de novo*.<sup>14</sup>

Num estudo, observou-se que a pregnenolona (PREG) e a dehidroepiandrosterona, assim como esteróides não conjugados e os seus esteres sulfatados acumulam-se no cérebro. Verificou-se ainda, que o nível destes esteróides mantem-se constante, mesmo depois da remoção dos esteróides periféricos através de procedimentos como adrenalectomia e gonadectomia, o que sugere que podem ser sintetizados *de novo* no cérebro.<sup>16</sup>

Assim, os NSs podem ser produzidos nos neurónios e nas células gliais em várias regiões do cérebro, nas quais se incluem o hipocampo e o neocórtex, através do colesterol ou de hormonas precursoras de esteróides.<sup>1</sup>

A síntese das hormonas esteróides ocorre em resposta à libertação das hormonas tróficas, como a hormona adrenocorticotrófica (ACTH) e a hormona luteinizante (LH) provenientes da glândula pituitária, que vão ativar as células esteroidogénicas. Este processo pode ocorrer em consequência de uma resposta aguda ou a longo prazo. No geral, há o aumento da capacidade da maquinaria esteroidogénica intracelular.<sup>17</sup>

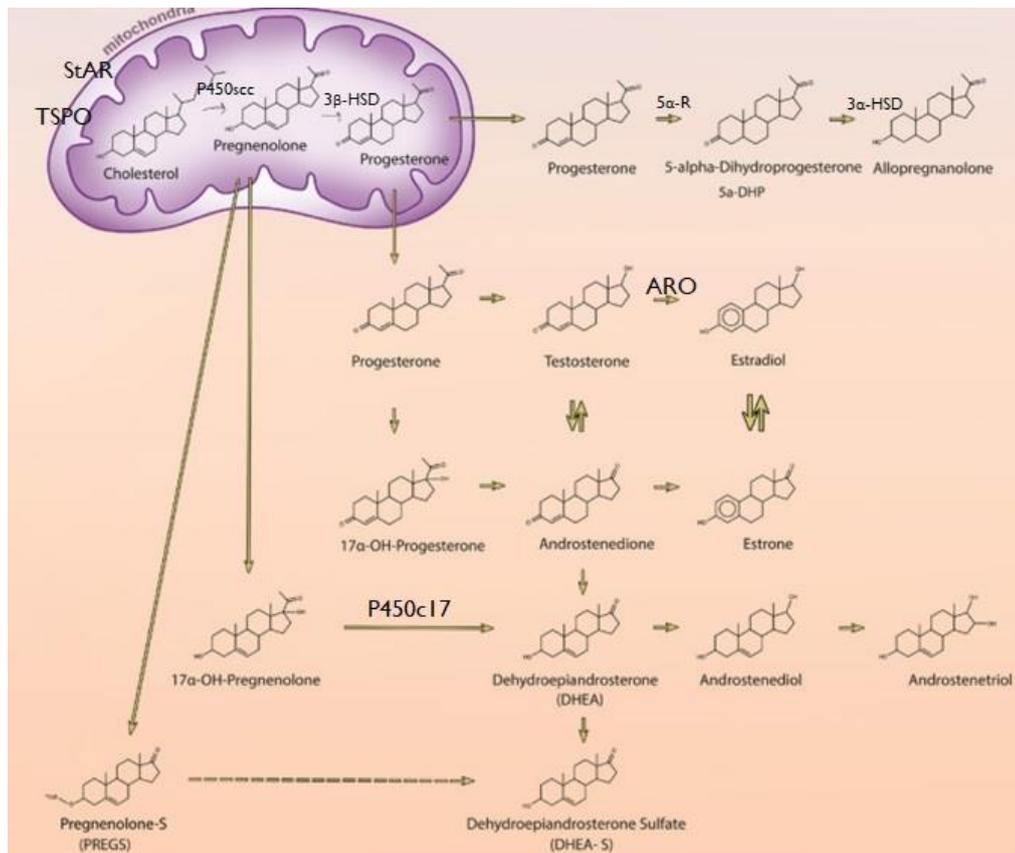
Os precursores esteróides são principalmente sintetizados pelas gónadas, glândulas suprarrenais e placenta passando por várias conversões nos tecidos periféricos (tecidos endócrinos reprodutivos, fígado e na pele) e visto que são altamente lipofílicos, conseguem facilmente passar a BHE e influenciar as funções cerebrais.<sup>1</sup>

Tal como as hormonas esteróides sintetizadas nas glândulas periféricas, os NSs também derivam do colesterol.<sup>5</sup> Desta forma, a neuroesteroidogénese inicia-se pelo transporte do colesterol ou outros esteróides precursores para a membrana mitocondrial externa pela ação da proteína reguladora esteroidogénica aguda (StAR). O colesterol é posteriormente transportado para o interior da membrana mitocondrial pela proteína translocadora (TSPO).<sup>18</sup>

A TSPO, antes designada de recetor benzodiazepínico periférico ou mitocondrial, encontra-se na membrana mitocondrial externa e consegue controlar a neuroesteroidogénese devido a facilitar o fluxo intramitocondrial do colesterol e consequentemente aumentar a sua biodisponibilidade para a biossíntese de NSs. Assim, a ação de ligantes seletivos da TSPO consegue estimular a produção de NSs.<sup>11</sup>

Uma vez no interior da mitocôndria a cadeia lateral do colesterol é clivada pela enzima de clivagem da cadeia lateral (P450<sub>scc</sub>) também conhecida por CYP11A1, produzindo o neuroesteroide precursor, a PREG.<sup>18</sup> A PREG é exportada através da membrana mitocondrial, podendo ser oxidada a progesterona (PROG) pela catálise da enzima 3-beta hidroxisteroide desidrogenase (3 $\beta$ -HSD), ou ser hidroxilada a 17-hidroxi-pragnanolona e posteriormente clivada pela enzima P450<sub>c17</sub> formando o DHEA. A PROG e o DHEA podem dar origem a uma ampla gama de NSs e os seus conjugados sulfatados, como desoxicorticosterona, THDOC, alloP e estradiol (E2).<sup>5</sup>

Todas as enzimas necessárias para a biossíntese estão presentes no cérebro. Uma vez que a 3 $\alpha$ -HSD apresenta uma atividade muito mais elevada do que a 5 $\alpha$ -redutase (5 $\alpha$ -R), a redução do esteróide 5 $\alpha$  é a etapa limitante da biossíntese. Da mesma maneira que existe uma desregulação dos NSs em condições patológicas, também vai haver uma expressão anormal das enzimas necessárias à esteroidogénese.<sup>19</sup>



**Fig.2:** Vias de síntese dos neuroesteroides (Adaptado da referência 20)

#### 4 - Patofisiologia do Acidente Vascular Cerebral

O AVC caracteriza-se por um surto neurológico abrupto que tem origem devido a uma perfusão deficiente dos vasos sanguíneos até ao cérebro. Pode ser classificado em AVC isquémico e AVC hemorrágico. Aproximadamente 85% dos AVCs existentes têm origem isquémica.<sup>7</sup>

O AVC isquémico ocorre quando há uma oclusão arterial devido a um trombo ou embolo, comprometendo o fornecimento de oxigénio e nutrientes ao cérebro, enquanto no AVC hemorrágico há um sangramento ou fugas nos vasos sanguíneos decorrente do stress no tecido cerebral e lesão interna que provocam a rutura dos vasos sanguíneos.<sup>7</sup> Dependendo do local onde ocorre, na substância cerebral ou no espaço subaracnoídea, pode ser classificado como hemorragia intraparenquimatosa ou hemorragia subaracnoídea, respetivamente.<sup>21</sup>

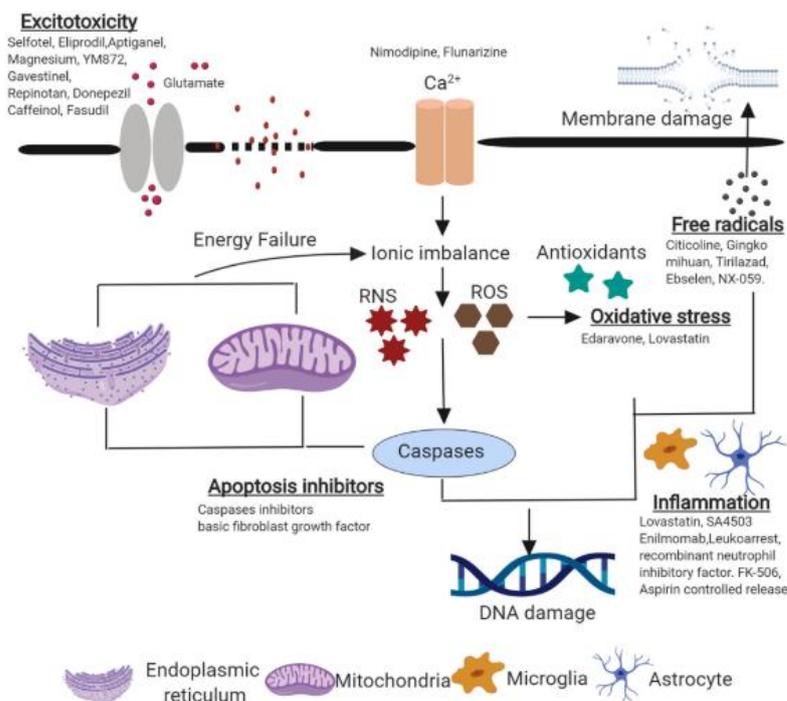
As pessoas que resistem ao AVC estão mais suscetíveis à sua recorrência e a sequelas incapacitantes a longo prazo, como o comprometimento cognitivo e o desenvolvimento de demência.<sup>21</sup>

Após a isquemia cerebral sucede-se um processo inflamatório prolongado e agudo que inclui, nas fases iniciais com uma duração de dias a horas, a ativação da microglia e dos

astrócitos e a síntese de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, o que resulta na infiltração de granulócitos, neutrófilos, macrófagos e células T no parênquima isquêmico do cérebro.<sup>19,6</sup> Há, portanto, uma intensificação da resposta inflamatória que leva à rutura da BHE, ao edema cerebral e à morte neuronal.<sup>22</sup> Assim, a lesão isquêmica cerebral resulta de uma cadeia de eventos que tem início numa agressão inicial e se pode desenrolar por várias horas ou até dias.<sup>21</sup>

Além disso, como o fluxo sanguíneo no cérebro está muito limitado, vai provocar uma depleção de oxigénio e nutrientes necessários para os neurónios manterem a homeostase iónica. Sendo assim, a célula vai ser despolarizada, libertando os neurotransmissores excitatórios, como o glutamato, para o espaço sináptico, o que resulta na sua acumulação, e visto que há falta de energia, há também o comprometimento da função dos transportadores de recaptção que são incapazes de eliminar o glutamato em excesso. Os dois principais recetores inotrópicos do glutamato consistem no recetor N-metil-D-aspartato (NMDARs) e no recetor do propionato de  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metilisoaxazol (AMPA).<sup>23</sup>

Uma vez que a inflamação aumenta o risco de AVC, considerou-se as células do sistema imunitário e as citocinas como potenciais alvos terapêuticos, tendo sempre em conta que níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias no soro estão associadas a uma maior gravidade do AVC, já níveis elevados de citocinas anti-inflamatórias relacionam-se com a diminuição da gravidade do AVC e a um melhor resultado.<sup>24,25</sup>



**Fig.3:** Possíveis alvos terapêuticos no AVC isquêmico (Adaptado da referência 22)

## 5 - Papel neuroprotetor dos neuroesteroides no AVC e os seus mecanismos de ação

O principal objetivo é prevenir o desenvolvimento de uma doença, no entanto, torna-se igualmente importante, após a ocorrência de uma lesão/distúrbio no SNC, parar a sua progressão e evitar possíveis danos celulares. Como os mecanismos que levam à neurodegeneração tanto nos distúrbios agudos como crónicos são semelhantes, é expectável que os mesmos esteróides neuroprotetores possam interferir em vários distúrbios do SNC.<sup>4</sup>

Verificou-se que as mulheres antes da menopausa tinham um risco inferior de AVC em relação a homens com a mesma idade, e que após a menopausa este risco aumentava, o que coincidia com a diminuição dos níveis de estrogénio e PROG, pelo que se considerou o seu papel neuroprotetor no AVC e nos seus possíveis danos.<sup>26</sup>

Outros NSs como o DHEAS também demonstraram ter impacto no AVC, pois a sua diminuição foi associada ao aumento do risco de AVC isquémico em mulheres mais velhas. Podem ainda constituir um bom marcador de doenças vasculares, visto que são produzidos em zonas sensíveis à lesão vascular.<sup>27</sup>

Há vários mecanismos de recuperação que se seguem após um AVC e devem-se à neuroplasticidade, que corresponde à capacidade de usar vias alternativas para substituir as lesionadas.<sup>28</sup> Logo, apesar da inflamação ser um alvo para a intervenção terapêutica, existem células inflamatórias que tanto podem ter um papel benéfico como prejudicial, pelo que é importante um tratamento definido no tempo para fornecer uma estratégia protetora.<sup>22</sup>

Como referido anteriormente, os NSs estão desregulados em diversas situações patológicas e podem ser usados como estratégia terapêutica, ajustando os seus níveis em resposta à neurodegeneração e a lesões cerebrais. Por um lado, a diminuição dos níveis de NSs pode estar associada à patologia e por isso pretende-se normalizar os seus níveis, por outro lado, o aumento do nível de NSs pode estar relacionado com o seu papel neuroprotetor. Desta forma, a estimulação da neuroesteroidogénese ou a administração exógena de NSs pode potenciar a resposta neuroprotetora.<sup>19</sup>

Os efeitos dos NSs podem ser mediados por vias genómicas (clássicas) e não genómicas. A via clássica caracteriza-se pela ligação aos recetores intracelulares dos NSs, onde estes agem como fatores de transcrição, podendo induzir ou reprimir a expressão de genes que favorecem a diferenciação e a sobrevivência neuronal. A via não genómica ativa as vias de transdução de sinal através da ligação a locais específicos da membrana.<sup>6</sup>

Admite-se que os efeitos agudos dos NSs não estejam relacionados com a interação com recetores clássicos das hormonas esteróides. Porém, os efeitos crónicos tanto podem

ser devido a ações rápidas genómicas (recetores de esteróides intracelulares clássicos) e não genómicas (canais iónicos e recetores da membrana) no cérebro.<sup>11</sup>

O efeito dos NSs ocorre rapidamente (em minutos), enquanto que a ação das hormonas esteróides nos recetores esteróides intracelulares é normalmente de longa duração, uma vez que está envolvida na regulação da expressão genética. Além disso, os NSs não manifestam afinidade com os recetores nucleares das hormonas esteróides. Isto vem reforçar o conceito de que os NSs modulam a excitabilidade cerebral principalmente pela interação com os recetores da membrana neuronais e canais iónicos.<sup>11</sup>

## 5.1 - Estrogénios

Os estrogénios para além de terem funções reprodutivas também conseguem modular várias funções cerebrais.<sup>29</sup> São distribuídos pela corrente sanguínea a vários tecidos, incluindo o sistema imunitário, o sistema cardiovascular e o SNC e que devido à sua natureza lipofílica conseguem atravessar as membranas celulares e a BHE e, desse modo, exercerem o seu efeito.<sup>6</sup>

A síntese de estrogénios tem como ponto de partida o colesterol, originando primeiro a PREG, que de seguida se converte em PROG, testosterona e por último em estradiol (E2), sendo que este último passo é catalisado pela aromatase.<sup>29</sup>

O E2 é a hormona estrogénica mais comum e potente. Existem vários estudos que comprovam o seu papel neuroprotetor tanto em condições neurodegenerativas agudas como crónicas, tal como na isquemia cerebral, no Parkinson, lesões cerebrais traumáticas e no Alzheimer.<sup>6</sup>

Após uma lesão cerebral, os níveis de aromatase estão aumentados nas regiões afetadas. Estes níveis são bons indicadores da quantidade de E2 proveniente do cérebro, sendo que quando existe uma regulação positiva de aromatase vai haver elevados níveis de E2. Pelo contrário, se existir uma regulação negativa vão diminuir os níveis de E2, o que se traduz num aumento ou diminuição do efeito anti-inflamatório do E2.<sup>29</sup>

As ações neuroprotetores propostas compreendem efeitos anti-inflamatórios, proteção contra a apoptose, manutenção do cálcio intracelular, atividade antioxidante, alteração da atividade glutaminérgica e vasodilatação do tecido cerebral lesado.<sup>6</sup>

Os estrogénios podem atuar direta ou indiretamente em três componentes da resposta inflamatória: 1) na ativação da microglia 2) na ativação da enzima óxido nítrico induzível (iNOS) 3) na ativação de citocinas/quimiocinas.<sup>25</sup>

Nos ensaios clínicos são principalmente utilizados modelos de animais de fêmeas ovariectomizadas para representar a mulher em pós-menopausa, visto que com a remoção

dos ovários, deixa de haver a produção de estrogénios, semelhante ao que acontece numa mulher em pós-menopausa.<sup>24</sup>

Num estudo sistemático realizado em modelos animais de AVC foi administrado um estrogénio exógeno, maioritariamente sob a forma de E2 antes ou após a isquemia cerebral. No geral, foi observado uma diminuição do volume da lesão de forma dependente da dose. De modo a identificar as limitações da eficácia do estrogénio, os dados foram agrupados de acordo com o estado hormonal e a idade, onde se verificou que o tratamento com o estrogénio apenas foi eficaz em mulheres ovariectomizadas e homens adultos jovens. Pesquisas em mulheres adultas jovens intactas não mostraram efeitos benéficos do tratamento com E2, o que se deve provavelmente aos efeitos protetores das hormonas femininas endógenos.<sup>26</sup>

Estes efeitos são conseguidos pela ligação dos estrogénios a recetores intracelulares dos estrogénios e a recetores membranares. Existem 3 formas de recetores de estrogénio, o recetor de estrogénio  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) e o recetor de estrogénio  $\beta$  (ER $\beta$ ), que estimulam as funções genómicas e não-genómicas, e o recetor acoplado à proteína G (GPR30) que é apenas responsável pelas ações rápidas e não genómicas.<sup>29,6</sup>

A interação do estrogénio com os recetores clássicos pode formar heterodímeros (ER $\alpha$ /ER $\beta$ ) ou homodímeros (ER $\alpha$ /ER $\alpha$ ) ou (ER $\beta$ /ER $\beta$ ) que ao entrarem no núcleo ligam-se a sequências específicas do DNA designadas de elementos de resposta ao estrogénio (ERE), ativando a expressão genética.<sup>29</sup>

A via não genómica caracterizada pelas suas ações rápidas, é conseguida pela ativação dos recetores de estrogénio ER $\alpha$ , ER $\beta$  e GPR30, que por sua vez permitem uma rápida ativação de várias vias de sinalização relacionadas à sobrevivência neuronal, como fosfatidilinositol 3-quinases (PI3K) /proteína quinase B (AKT), a quinase regulada por sinal extracelular (ERK)/proteína quinase ativada por mitogénio (MAPK), proteína quinase A (PKA) ou proteína quinase C (PKC).<sup>29</sup>

Apesar dos benefícios do tratamento com estrogénio reportados em estudos feitos em animais, um estudo realizado pela Iniciativa da Saúde da Mulher (WHI) avaliou o uso de estrogénio sozinho (estrogénio equino conjugado) em mulheres saudáveis na pós-menopausa. Este estudo teve de ser interrompido prematuramente uma vez que não revelou benefícios para a doença coronária e apresentou ainda um risco aumentado de AVC isquémico. No entanto, deve-se ter em conta que a média de idades era de 63-64 anos, tendo já decorrido vários anos desde a menopausa.<sup>30</sup>

Existe evidência de que a terapêutica hormonal de substituição (THS) deve ser efetuada numa faixa de idades específicas, isto é, na idade da menopausa ou logo após a

retirada dos ovários. Caso a THS seja administrada tardiamente, como depois dos 65 anos, vai ter pouco benefício, isto pode dever-se ao facto dos neurónios mais velhos serem menos responsivos ao estrogénio.<sup>31</sup> Posto isto, propôs-se que a terapêutica com estrogénio tem mais vantagens no início da menopausa, visto que em mulheres mais velhas, que já tiveram a menopausa há vários anos demonstrou ser ineficaz ou até prejudicial.<sup>24</sup>

Além disso, os resultados provenientes da reintrodução do estrogénio vão depender da interação entre o sistema alvo, da saúde desse sistema, da duração da privação de estrogénio e da via de administração.<sup>25</sup>

## 5.2 - Progesterona

A progesterona (PROG) é uma hormona esteróide produzida pelos ovários e placenta em mulheres, e pelas células adrenais em ambos os sexos e que devido ao seu tamanho reduzido e solubilidade lipídica consegue atravessar a BHE e exercer os seus efeitos. No entanto, como já referido anteriormente, a PROG também é um neuroesteroide, uma vez que pode ser sintetizada localmente no SNC nos neurónios e células gliais, onde estão expressas as enzimas necessárias para a sua síntese e a dos seus metabolitos, cujo principal é a alloP. A sua formação tem como precursor a PREG que ao passar por 3 reações enzimáticas sequenciais catalisadas pela  $3\beta$ -hidroxiesteroide desidrogenase ( $3\beta$ -HSD) forma a PROG, e pela ação da  $5\alpha$ -redutase ( $5\alpha$ -R) produz  $5\alpha$ -dihidroprogesterona ( $5\alpha$ -DHP) e  $3\alpha$ -hidroxisteroides desidrogenase ( $3\alpha$ -HSD) origina, por fim, a alloP.<sup>14</sup>

A atividade neuroprotectora da PROG foi primeiro identificada quando se observou uma melhor recuperação em ratos fêmeas pseudográvidas (consiste num estado semelhante ao da gravidez que ocorre em alguns mamíferos) após uma lesão cerebral traumática, verificando-se ainda uma relação inversa em relação aos níveis de PROG e ao grau do edema cerebral após a lesão.<sup>4</sup>

Um estudo realizado em ratos fêmea adultas jovens ovariectomizadas, em que lhes foi administrado progesterona exógena num intervalo de concentrações plasmáticas fisiológicas e supra-fisiológicas, constatou que não houve melhoria da lesão cerebral após oclusão vascular. Além disso, quando são administradas doses elevadas cronicamente pode exacerbar volume da lesão após oclusão da artéria cerebral média (MCAO).<sup>32</sup>

Com o intuito de compreender se a PROG melhora o resultado do AVC de uma forma dependente da dose e do tempo, foi administrada de forma aguda tanto antes da isquemia focal experimental como durante os períodos pré e pós-isquémicos usando uma

dose inferior que não fosse prejudicial à lesão. Assim, demonstrou-se que o volume da lesão não teve alterações significativas quando administrado durante a pré-isquémica, sendo que a sua administração antes da MCAO e durante a reperfusão diminuiu a lesão isquémica cerebral. Além disso, revelou que a dose ótima neuroprotecção é 8 mg/kg.<sup>33</sup>

A sua ação neuroprotecção pode ser desempenhada pela diminuição da resposta inflamatória, através do abrandamento da resposta induzida pelas citocinas e por retardar a ativação das células imunitárias e a sua migração<sup>4</sup>; diminuição da permeabilidade da BHE, cuja ruptura está ligada ao aumento da expressão de citocinas e quimiocinas<sup>34</sup>; remoção da disfunção mitocondrial; diminuição do dano oxidativo e promovem a mielinização pelos oligodendrócitos e as células Schwann.<sup>6</sup>

A PROG exerce os seus efeitos principalmente pela interação com recetores intranucleares da progesterona (PR), o recetor da progesterona-A e o recetor da progesterona-B, podendo interagir com os elementos de resposta da progesterona (PREs) nas regiões promotores dos genes alvo e consequentemente modular a transcrição.<sup>29,35</sup> A transcrição pode ser positiva ou negativa, dependendo da disponibilidade dos co-ativadores ou dos co-repressores.<sup>29</sup> A PROG pode também atuar através da sua ligação aos recetores associados à membrana, os recetores membranares da progesterona (mPR), e ao componente I associado ao recetor de membrana da progesterona (PGRMCI).<sup>19</sup>

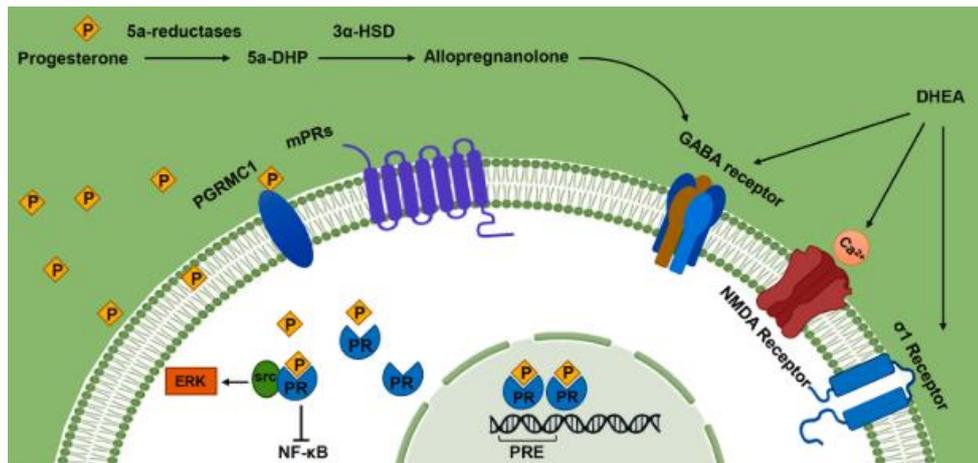
A ativação destes recetores vai depender da concentração da progesterona no cérebro. Em doses elevadas pode saturar os recetores nucleares (PR), conseguindo ainda ativar os recetores membranares mPR e PGRMCI. No entanto, doses elevadas também podem levar à dessensibilização de recetores ou diminuir a sua expressão.<sup>19</sup>

Tal como o E2, a PROG também vai ativar vias de sinalização associados à neuroprotecção como a MAPK/ERK, ou a proteína quinase serina/treonina Akt.<sup>4</sup> Em relação aos mPR, conhecem-se 5 isoformas mPR $\alpha$ , mPR $\beta$ , mPR $\gamma$ , mPR $\delta$  and mPR $\epsilon$  que permitem vias de sinalização diferentes, sendo a interação com a proteína G, a mais conhecida, resultando na ativação (mPR $\alpha$ , mPR $\beta$  and mPR $\gamma$ ) ou inibição (mPR $\delta$  and mPR $\epsilon$ ) da via MAPK.<sup>29</sup>

O recetor PGRMCI é menos conhecido, no entanto existe evidência de que a sua ativação pela PROG pode levar à libertação do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) pelos astrócitos.<sup>29</sup> O BDNF é um dos mediadores mais importantes da neurogénese, podendo ser sintetizado nos neurónios e células gliais e regular várias funções cerebrais.<sup>18</sup>

A conversão da PROG a alloP, permite também a modulação da atividade do recetor GABA<sub>A</sub>. O efeito neuroprotetor da alloP contra a morte celular por isquemia vai depender

da sua ação potenciadora neste recetor, isto é, na otimização da transmissão inibitória do GABA, que vai bloquear ou reduzir a convulsão pós-lesão e a excitotoxicidade resultante.<sup>6</sup> A privação de oxigénio e glucose provoca um declínio na função destes recetores, no entanto a alloP demonstrou estabilizar os recetores GABA<sub>A</sub> e embora não seja conhecido exatamente este mecanismo, o simples facto de potenciar a resposta destes recetores vai prevenir a sua perda induzida pela isquemia.<sup>36</sup>

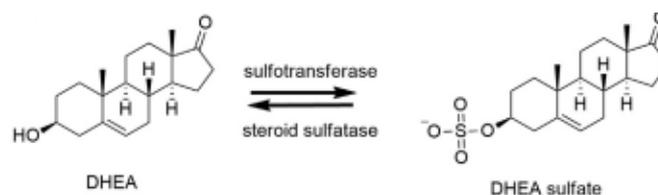


**Fig.4:** Ação da PROG e do seu metabolito alloP através de vias genómicas e não genómicas, assim como a ligação do DHEA a alguns recetores membranares, através dos quais pode exercer a sua ação. (Adaptado da referência 6)

### 5.3 - Dehidroepiandrosterona (DHEA) e Sulfato de Dehidroepiandrosterona (DHEAS)

A DHEA consiste no NS mais comum no corpo e o primeiro a ser descoberto. É principalmente proveniente das glândulas adrenais, mas também pode ser sintetizado pelas gónadas e SNC.<sup>15</sup>

DHEAS é originado pela sulfatação do DHEA. Esta reação de conjugação vai tornar os compostos mais hidrofílicos e, portanto, a difusão passiva pela BHE está limitada. Além disso, apresentam semividas superiores aos dos seus desconjugados, podendo constituir uma reserva de esteróides.<sup>15</sup>



**Fig.5:** Reação de sulfatação para formar o DHEAS. (Adaptado da referência 15)

DHEA atua como fator neurotrófico e neuroprotetor. Não foram identificados recetores intracelulares para o DHEA, podendo ser posteriormente convertido em E2 e ativar os recetores de estrogénio ou converter-se em testosterona e dihidrotestoesterona e ativar os recetores androgénicos. Pode, no entanto, modular vários recetores membranares, como os recetores GABA<sub>A</sub>, NMDA,  $\sigma$ 1, canais iónicos, entre outros (Figura 4).<sup>5</sup>

O primeiro estudo realizado em animais para testar a eficácia da administração exógena de DHEA como neuroprotetor durante a isquemia cerebral, demonstrou que o DHEA apenas era eficaz em elevadas concentrações, e ainda que num nível moderado a fraco, pode ser usado como agente neuroprotetor no futuro tratamento do AVC.<sup>37</sup>

Num estudo em que o DHEA foi administrado 3-48h após isquemia na dose de 20 mg/kg, permitiu a redução da morte cerebral, já quando administrado 1h antes ou após a ocorrência de isquemia na mesma dose pode intensificar os danos cerebrais induzidos pela isquemia e comprometer a aprendizagem. Quando administrada a dose de 25-100 mg/kg, 15 dias antes da isquemia levou a efeitos neuroprotetores mais pronunciados e à redução da isquemia cerebral. Logo, a ação do DHEA é dependente do tempo e da dose, podendo apresentar uma dupla ação, neurotóxica ou neuroprotetora.<sup>4</sup>

O tratamento agudo com DHEA leva a um aumento do influxo de cálcio pelos recetores NMDA, e conseqüentemente à indução da morte celular, por outro lado, quando é administrado numa única injeção subaguda revelou ter efeitos neuroprotetores.<sup>6</sup>

O alvo principal do DHEA e do seu conjugado é o recetor sigma 1 ( $\sigma$ 1R), constituindo um dos seus ativadores mais potentes. Ao interagir com estes recetores vai haver um aumento das respostas mediadas pelos recetores NMDA. Como após a isquemia há uma redução da fosforilação da tirosina da subunidade 2B do recetor NMDA (NR2B) e estes são dependentes dos recetores  $\sigma$ 1, a continua ativação dos  $\sigma$ 1R pelo DHEA vai levar ao aumento da fosforilação da tirosina de NR2B, e conseqüentemente, ao influxo de Ca<sup>2+</sup> através do recetor NMDA resultando na neurotoxicidade do DHEA. No entanto, existe informação contraditória no papel dos  $\sigma$ 1Rs na regulação do Ca<sup>2+</sup>, que pode dever-se a diferenças nos sistemas experimentais.<sup>38</sup>

Por outro lado, a maioria da ação neuroprotetora do DHEA, observada quando administrada dentro do intervalo de 3-48h após a isquemia, está relacionada com a sua interação com o  $\sigma$ 1R.<sup>38</sup>

Durante a isquemia há uma regulação negativa do transportador glial do glutamato (GLT-1), mesmo após a retoma do fornecimento de glicose-oxigénio às células. Assim, o DHEA aumenta a taxa de transporte da glicose e conseqüentemente a sua captação, e regula

positivamente a função dos GLT-1 através da ativação dos  $\sigma$ IRs, resultando na diminuição da acumulação do glutamato.<sup>38</sup>

O tecido cerebral necessita de grandes quantidades de energia, pelo que é muito sensível à hipoxia, conduzindo à morte neuronal e ao défice cognitivo. Nesta situação existem elevadas concentrações de glutamato e GABA, podendo levar ao comprometimento da função sináptica. O DHEA e o seu éster sulfato podem ter a função de ajustar vários tipos de transmissão sináptica.<sup>39</sup> Assim, consegue ligar-se ao local da picrotoxina nos recetores GABA<sub>A</sub>, e devido à sua ação moduladora negativa, vai suprimir a morte neuronal induzida pela privação do oxigénio e glucose, e desta forma, ter um papel preventivo na disfunção cognitiva.<sup>5, 39</sup>

#### **5.4 - Modulação dos recetores do ácido $\gamma$ -aminobutírico tipo A (GABA<sub>A</sub>Rs)**

Os GABA<sub>A</sub>Rs constituem canais cloreto controlados por ligantes que atuam na neurotransmissão inibitória rápida, tendo sido considerados um dos principais alvos dos NSs.<sup>5</sup> São proteínas pentaméricas constituídas por 5 subunidades, que incluem 2 subunidades  $\alpha$ , 2 subunidades  $\beta$  e uma subunidade  $\gamma$  ou  $\delta$ .<sup>40,11</sup> Cada subunidade inicia-se por um domínio extracelular “N” seguida de 4 domínios transmembranares (TM1, TM2, TM3 e TM4), terminando no terminar extracelular “C”.<sup>41</sup>

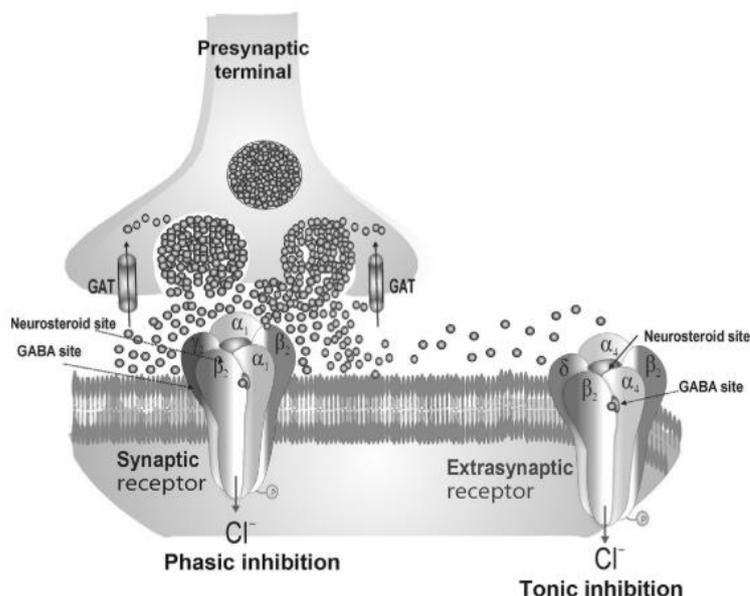
São importantes sítios de ação para diversos fármacos como benzodiazepinas, barbitúricos, anestésicos, neuroesteróides, picrotoxina e convulsivos tipo t-butil biciclofosforotionato (TBPS) e apresentam na sua constituição múltiplos sítios de ligação com uma relação alostérica entre si.<sup>42</sup>

As interações dos NSs com os GABA<sub>A</sub>Rs tem a capacidade de alterar a excitabilidade e a função do SNC por mecanismos não genómicos.<sup>42</sup> A modulação dos NSs pode produzir ações potenciadoras ou antagónicas, sendo que o efeito mais potente dos NSs nos GABA<sub>A</sub>Rs consiste na ação moduladora positiva.<sup>40</sup>

Várias condições neurológicas e psiquiátricas provocam a inibição mediada pelos GABA<sub>A</sub>Rs. Isto pode estar relacionado coma a alteração dos níveis de NSs nestas mesmas condições, o que impede a sua ação potenciadora no principal recetor inibitório do cérebro.<sup>43</sup>

Tendo em conta a sua localização, os GABA<sub>A</sub>Rs podem ser classificados em recetores sinápticos (contêm a subunidade  $\gamma$ ) e extrasinápticos (contêm a subunidade  $\delta$ ).<sup>1</sup> Alguns NSs são potentes agonistas alostéricos positivos de ambos os recetores, pelo que vão potenciar tanto as correntes fásicas como tónicas. Os GABA<sub>A</sub>Rs sinápticos medeiam a transmissão inibitória fásica com baixa afinidade para o GABA que é libertado a elevadas concentrações

intermitentemente das vesículas pré-sinápticas. Contrariamente, a inibição tónica é mediada através da ativação dos GABA<sub>A</sub>Rs extrasinápticos com alta afinidade a baixas concentrações do GABA presentes no espaço extracelular.<sup>40,11</sup>

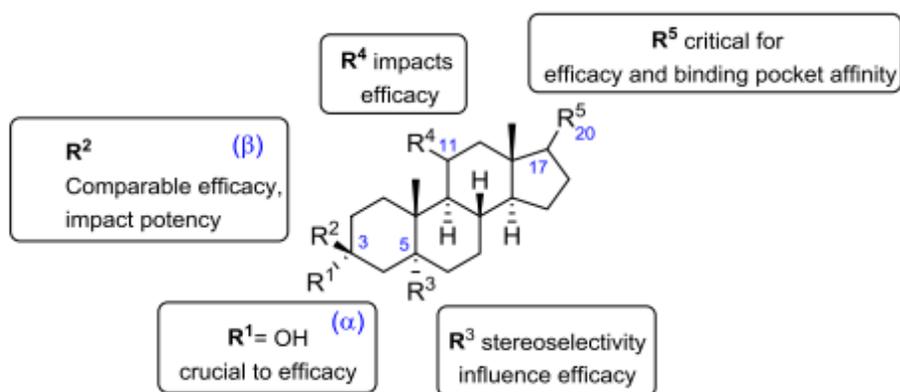


**Fig.6:** Representação dos GABA<sub>A</sub>Rs sinápticos e extrasinápticos. (Adaptado da referência 1)

A ação dos NSs vai depender da sua concentração: a concentrações elevadas (>1 μm), os NSs ativam diretamente os recetores, e a concentrações reduzidas (<1 μm), potenciam alostericamente as correntes do GABA<sub>A</sub>R.<sup>1</sup>

Existem requisitos estruturais rigorosos para a modulação de NSs nos GABA<sub>A</sub>Rs. Estudos de estrutura - atividade confirmaram que a estrutura esteróide C3α-OH (no anel A) é crucial para a afinidade de ligação e para reforçar a função do recetor. Além da estereosseletividade do 5α-H, o grupo C17- ou C20-cetona (anel D) são importantes para a modulação alostérica positiva de alta potência. Adicionalmente, as propriedades lipofílicas dos NSs contribuem para a eficácia e potencia da ligação ao recetor.<sup>1,11</sup> Por outro lado, a formação de um éster sulfato no 3α-OH vai reverter a modulação de positiva para negativa. Além disso, a sulfatação em C3 ativa a modulação dos esteróides nos recetores NMDA.<sup>44</sup> Alterações na posição C17 podem ter grande impacto na potência e eficácia dos PAMs nestes recetores, contudo os NAMs conseguem-se adaptar a vários substituintes no C17.<sup>1,44</sup> Assim, podemos dizer que os NSs inibitórios suportam uma maior variedade de mudanças estruturais em relação aos moduladores positivos, já que estes últimos possuem requisitos mais rigorosos.<sup>44</sup>

Segundo as características estruturais mencionadas, a PREG e os seus metabolitos vão atuar como PAM, pelo contrário o sulfato de PREG e DHEA e o seu éster sulfato (DHEAS) agem como NAMs.<sup>42</sup>



**Fig.7:** Principais características estruturais dos NSs para a ativação dos recetores GABA<sub>A</sub> extrasinápticos. (Adaptado da referência 10)

Os efeitos dos NSs são alcançados pela ligação aos canais recetores. Assim, sugeriu-se a existência de sítios de ligação diferentes no GABA<sub>A</sub>R dependendo do tipo de modulação.<sup>42</sup>

Embora não se saiba exatamente o sitio de ligação dos NSs, existem 2 sítios de ligação discretos nos GABA<sub>A</sub>Rs que incluem um local alostérico dentro do domínio transmembranar da subunidade α (TM1 e TM4) e um local de ativação direta na interface entre a subunidade α em TM1 e a subunidade β em TM3.<sup>1,45</sup>

A exposição aos NSs vai contribuir para o aumento da probabilidade da abertura dos canais de cloreto dos recetores GABA<sub>A</sub>Rs. Isto vai permitir o aumento das correntes de cloreto através do canal, resultando na diminuição da excitabilidade neuronal (aumento da transmissão GABAérgica inibitória). Estas ações ocorrem a concentrações fisiológicas dos NSs, pelo que níveis endógenos de NSs conseguem modular continuamente a função dos GABA<sub>A</sub>Rs.<sup>11</sup>

Sabendo que os NSs conseguem atuar a baixas concentrações, sugeriu-se a presença de sítios de ligação dos NSs de elevada afinidade nos recetores GABA<sub>A</sub>Rs. No entanto, o facto de serem lipofílicos possibilita a sua acumulação na proximidade do local de ligação transmembranar proposto no recetor GABA<sub>A</sub>, aumentando a probabilidade de ocupar os locais de ligação no recetor. Portanto, os NSs podem ter baixa afinidade com os recetores.<sup>14</sup>

Quando existe saturação das ligações alostéricas, os NSs seguem para a ativação direta dos recetores. Isto acontece quando os NSs estão numa concentração superior a 1 μm, contudo as concentrações fisiológicas endógenas de NSs encontram-se dentro do intervalo de 0.1-0.3 μm. Este aspeto tem um grande interesse farmacológica, uma vez que com a administração exógena de NSs consegue-se alcançar concentrações suficientemente altas para ativar diretamente os recetores GABA.<sup>1</sup>

Existem inúmeras propriedades que fazem com que os NSs sejam mais atrativos para o desenvolvimento de novas terapêuticas do que os modeladores tradicionais, como as benzodiazepinas.<sup>11</sup>

O sítio de ligação dos NSs é diferente dos locais de ligação do GABA, dos barbitúricos e das benzodiazepinas.<sup>1</sup> Sugeriu-se que os NSs se podem ligar a 3 ou 4 sítios distintos nos GABA<sub>A</sub>Rs, já as benzodiazepinas ligam-se a um sítio alostérico situado entre as subunidades  $\alpha$  e  $\gamma$ . Assim, a atividade das benzodiazepinas está limitada, agindo apenas sobre as correntes sinápticas dos GABA<sub>A</sub>Rs. Por outro lado, os NSs são capazes de modular todas as isoformas dos GABA<sub>A</sub>Rs, sendo que os recetores que contêm a subunidade  $\delta$  exibem preferencial sensibilidade.<sup>10</sup> O aumento destes recetores potencia a sensibilidade dos NSs. Posto isto, os NSs podem apresentar vantagens terapêuticas.

### **5.5 - Modulação dos recetores de N-metil-D-aspartato (NMDARs)**

Os NMDARs são heterotetrâmeros compostos por duas subunidades GluN1 e duas subunidades GluN2 (estas podem ser GluN2A-GluN2D, assim como GluN3A e GluN3B, formando um poro de canal iónico com diferentes propriedades.<sup>23</sup> Além de reconhecerem a ligação co-agonista do glutamato e da glicerina, estes recetores também se vão ligar a vários moduladores endógenos farmacológicos, como é o caso dos NSs.<sup>46</sup> Estes recetores desempenham funções importantes na transmissão sináptica excitatória, plasticidade sináptica, no desenvolvimento cerebral, na aprendizagem e na memória, pelo que foi considerado como um potencial alvo terapêutico no AVC.<sup>40</sup>

No estado de repouso, os poros do canal do NMDAR encontram-se bloqueados pelo  $Mg^{2+}$  que requer a sua prévia dissociação para a ativação. Os AMPARs vão ser ativados pelo glutamato, quando este for libertado dos sítios pré-sináticos, provocando um influxo de  $Na^+$  e conseqüentemente um aumento da carga positiva interna que por repulsão electrostática vai remover o  $Mg^{2+}$  que bloqueava os NMDARs.<sup>23,10</sup>

Assim que os NMDARs são ativados, há a passagem dos iões de cálcio e sódio para o interior das células.<sup>23</sup> Este influxo de cálcio é responsável pela ativação de vias intracelulares que levam a processos fisiológicos (aprendizagem e memória) e patológicos (morte celular por isquemia).<sup>47</sup> Quantidades elevadas do neurotransmissor excitatório glutamato resulta numa ativação excessiva dos NMDARs e numa sobrecarga de  $Ca^{2+}$  dentro dos neurónios que por sua vez desencadeia a ativação da calpaína, a geração de espécies reativas ao oxigénio (ROS) e a danos mitocondriais que conduzem à morte celular neuronal.<sup>23</sup>

Assim, a ativação excessiva destes recetores está associada à excitotoxicidade, distúrbios neurológicos, como AVC, lesão cerebral traumática, neurodegeneração e depressão.<sup>10</sup>

Os NMDARs tanto podem ter efeitos benéficos (sinalização ERK) ou efeitos prejudiciais relacionados com a ativação do NMDAR (função mitocondrial, anormalidades morfológicas e morte cerebral), pelo que foi sugerido por vários estudos que a localização celular destes recetores pode ter influência na viabilidade neuronal. Verificou-se ainda os seguintes aspetos:

- 1) A existência de duas populações de NMDARs em culturas de neurónios corticais de ratos, recetores sinápticos e extrasinápticos e que aquando da sua ativação aumentavam o  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, contudo o efeito do  $\text{Ca}^{2+}$  diferia nos dois recetores, visto que apenas os NMDARs sinápticos fosforilavam o ERK.
- 2) A ativação dos NMDARs sinápticos está associado à indução da expressão do BDNF através da fosforilação da proteína de ligação ao elemento de resposta do cAMP (CREB), pelo contrário a ativação do NMDAR extrasináptico desliga a ativação do CREB.
- 3) O aumento do  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular desencadeado pela ativação dos NMDARs não é neurotóxico, pelo contrário um aumento semelhante de  $\text{Ca}^{2+}$  nos NMDARs extrasinápticos além de induzir a morte neuronal, também exercem um feedback negativo nas vias de sinalização efetuadas pelos NMDARs sinápticos.
- 4) A ativação dos recetores extrasinápticos ocorre apenas quando o glutamato ultrapassa a fenda sináptica.<sup>48</sup>

Sabe-se que a subunidade GluN2B é abundante nos recetores extrasinápticos, enquanto que a subunidade GluN2A é altamente expressa nos recetores sinápticos. O ideal seria bloquear seletivamente os recetores extrasinápticos, ou melhor, a subunidade GluN2B, no entanto, esta abordagem terapêutica não é possível, visto que não há uma segregação total das subunidades dos NMDARs, e portanto poderia também inibir os recetores sinápticos.<sup>23</sup>

Os NMDARs têm vários sítios para serem investigados farmacologicamente como o poro de canal iónico, o sítio de ligação do glutamato, o sítio de ligação da glicina e o sítio de interação da poliamina.<sup>47</sup>

A terapêutica inicial consistia no bloqueio destes recetores para o tratamento de distúrbios psiquiátricos e neurológicos que eram desencadeados pela excitotoxicidade. Por outro lado, os modeladores alostéricos positivos dos NMDARs podem representar uma boa terapêutica nos casos em que possa existir distúrbios neuropsiquiátricos associados à hipofunção dos NMDARs.<sup>40</sup>

Os NSs que modulam estes recetores e podem ser categorizados em dois grupos, os oxisteróis, que se formam pela hidroxilação do colestano e os derivados de pregnano que possuem um grupo com carga em C3, como sulfato, hemisuccinato, glutamato, entre outros.<sup>40,10</sup> A sua ação pode alterar a amplitude e o curso de tempo do fluxo de cálcio desencadeado pelo glutamato, dependendo se vão agir com PAMs ou NAMs.<sup>49</sup>

O sulfato de pregnanolona (PAS) é um metabolito endógeno da progesterona que inibe os NMDARs. Num estudo em que se examinou a atividade da PAS nos recetores GluN1/GluN2A, foram induzidas correntes com níveis saturantes de glutamato e glicerina, verificando-se que, nestas condições, 0,1 mM de PAS reduziu a probabilidade de abertura dos NMDARs em 50%, pelo aumento do tempo gasto dos recetores em conformações fechadas. Propôs-se assim, que PAS inibe a atividade dos NMDARs pelo deslocamento dos recetores ativos para conformações dessensibilizadas.<sup>46</sup>

Um outro estudo revelou que a transmissão sinática continuará praticamente inalterada, visto que PAS vai inibir para metade as respostas dos recetores expostos continuamente a elevadas concentrações de glutamato em situações patológicas, como é o caso dos recetores extrasinápticos. Assim, esta abordagem terapêutica é muito procurada, uma vez que permite que a transmissão normal ocorra e impede que prossiga a patológica.<sup>49</sup>

## **6 - Neuroesteroides sintéticos**

Os NSs naturais têm potencial terapêutico tanto no SNC como no periférico, no entanto, apresentam uma rápida biotransformação o que limita o seu uso clínico.<sup>4</sup>

A sua baixa biodisponibilidade deve-se ao facto de serem rapidamente inativados ou eliminados pela conjugação com o ácido glucuronido ou o sulfato no grupo 3 $\alpha$ -OH, e porque o grupo 3 $\alpha$ -OH da alloP pode sofrer oxidação a cetona, deixando de ter atividade no GABA<sub>A</sub>R.<sup>11</sup>

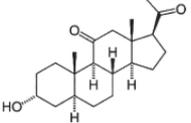
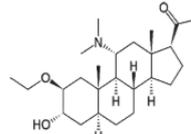
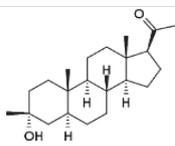
Assim, surgiram os NSs sintéticos que vieram suplantar as dificuldades advindas dos NSs naturais. Os mais conhecidos consistem na alfaxolona, alfadolona, minaxolona e ganaxolona (GX).<sup>2</sup>

Em particular, a GX tem sido extensivamente investigada, pois tal como a alloP é um modulador alostérico positivo.<sup>11</sup>

Num estudo aleatório e duplamente cego comparou-se a GX aos medicamentos antiepiléticos convencionais em 147 participantes adultos com crises parciais refratárias, no qual houve uma melhoria da média semanal de convulsões e no desfecho final no grupo a tomar GX.<sup>11</sup>

Neste momento, existem alguns compostos em ensaios clínicos que estão representados na tabela. <sup>11</sup>

**Tabela I:** Potencial uso clínico NSs sintético. (Adaptado da referência 11)

<b>Agente</b>	<b>Estrutura química</b>	<b>Principal indicação</b>	<b>Estado</b>
<b>Alfaxolona</b>		Anestésico	Uso veterinário
<b>Minaxolona</b>		Sedativo Ansiedade	Fase I/II
<b>Ganaxolona</b>		Epilepsia	Ensaio de Fase IIB

## 7 - Perspetivas Futuras e Conclusão

Desde a descoberta dos NSs têm sido realizados inúmeros estudos que revelam o seu potencial terapêutico em vários distúrbios do SNC. Estes resultados promissores atraíram cientistas a continuarem a sua investigação.

Tendo em conta a prevalência do AVC e as suas possíveis consequências torna-se importante descobrir novos mecanismos de tratamento. Desta forma, é importante compreender os mecanismos que se seguem após um AVC, como a cascata inflamatória.

Assim, para a terapêutica do AVC é importante considerar um tratamento dependente do tempo, pois os processos inflamatórios tanto podem ter efeitos benéficos como prejudiciais.

É inegável a influencia dos NSs nas funções cerebrais, tendo já sido comprovado em vários estudos. Verificou-se ainda que a alteração dos seus níveis pode dever-se a vários cenários, tanto fisiológicos, como patológicos. Desta forma, considerou-se que a sua utilização na prática clínica passasse por ajustar os seus níveis de modo a responderem a possíveis lesões cerebrais, através da estimulação da esteroideogénese ou pela administração exógena de NSs, reforçando as suas ações.

Ao longo desta monografia foram discutidos vários estudos sobre o envolvimento dos NSs com ação neuroprotetora no AVC, no entanto, apesar de revelarem os seus potenciais benefícios, não foram conclusivos nos seus resultados.

O facto de muitos dos ensaios clínicos falharem, pode dever-se a vários fatores que interferem nos resultados, como a idade, o sexo, o número reduzido de participantes e a curta duração dos estudos.

Posto isto, é essencial continuar a pesquisa nesta área de forma a estabelecer tratamentos seguros e eficazes.

## 8 - Referências Bibliográficas

1. REDDY, Doodipala Samba - **GABA-A Receptors Mediate Tonic Inhibition and Neurosteroid Sensitivity in the Brain** [Em linha]. 1. ed. [S.l.] : Elsevier Inc., 2018 Disponível em WWW:<URL:http://dx.doi.org/10.1016/bs.vh.2017.12.001>.
2. REDDY, Doodipala Samba; ESTES, William A. - Clinical Potential of Neurosteroids for CNS Disorders. **Trends in Pharmacological Sciences**. ISSN 18733735. 37:7 (2016) 543–561. doi: 10.1016/j.tips.2016.04.003.
3. GRAVIELLE, María Clara - Regulation of GABAA receptors by prolonged exposure to endogenous and exogenous ligands. **Neurochemistry International**. ISSN 18729754. 118:2018) 96–104. doi: 10.1016/j.neuint.2018.05.015.
4. BOROWICZ, Kinga K. *et al.* - Neuroprotective actions of neurosteroids. **Frontiers in Endocrinology**. ISSN 16642392. 2:OCT (2011). doi: 10.3389/fendo.2011.00050.
5. XU, Jiawei *et al.* - Neurosteroids: A novel promise for the treatment of stroke and post-stroke complications. **Journal of Neurochemistry**. ISSN 14714159. 160:1 (2022) 113–127. doi: 10.1111/jnc.15503.
6. VAHIDINIA, Zeinab; KARIMIAN, Mohammad; JOGHATAEI, Mohammad Taghi - Neurosteroids and their receptors in ischemic stroke: From molecular mechanisms to therapeutic opportunities. **Pharmacological Research**. ISSN 10961186. 160:August (2020) 105163. doi: 10.1016/j.phrs.2020.105163.
7. KURIAKOSE, Diji; XIAO, Zhicheng - IMP para qué es el ictus, tipos y causas. También para datos epidemiológicos y tratamientos. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 14220067. 21:20 (2020) 1–24.
8. ALVAREZ, Lautaro D.; PECCI, Adali; ESTRIN, Dario A. - In Search of GABAA Receptor's Neurosteroid Binding Sites. **Journal of Medicinal Chemistry**. ISSN 15204804. 62:11 (2019) 5250–5260. doi: 10.1021/acs.jmedchem.8b01400.
9. KALETA, Michal *et al.* - Analytical methods for the determination of neuroactive steroids. **Biomolecules**. ISSN 2218273X. 11:4 (2021). doi: 10.3390/biom11040553.
10. BLANCO, Maria Jesus *et al.* - Breakthroughs in neuroactive steroid drug discovery. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**. ISSN 14643405. 28:2 (2018) 61–70. doi: 10.1016/j.bmcl.2017.11.043.
11. REDDY, Doodipala Samba - Neurosteroids. Endogenous role in the human brain and

therapeutic potentials. Em **Progress in Brain Research**. [S.l.] : Elsevier B.V., 2010v. 186. p. 113–137.

12. LÉVESQUE, Maxime; BIAGINI, Giuseppe; AVOLI, Massimo - Neurosteroids and focal epileptic disorders. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 14220067. 21:24 (2020) 1–14. doi: 10.3390/ijms21249391.

13. JOKSIMOVIC, Sonja L. *et al.* - Neurosteroids in pain management: A new perspective on an old player. **Frontiers in Pharmacology**. ISSN 16639812. 9:OCT (2018). doi: 10.3389/fphar.2018.01127.

14. PALARETI, G. *et al.* - Comparison between different D-Dimer cutoff values to assess the individual risk of recurrent venous thromboembolism: Analysis of results obtained in the DULCIS study. **International Journal of Laboratory Hematology**. ISSN 1751553X. 38:1 (2016) 42–49. doi: 10.1111/ijlh.12426.

15. VITKU, Jana *et al.* - Steroid Sulfation in Neurodegenerative Diseases. **Frontiers in Molecular Biosciences**. ISSN 2296889X. 9:February (2022) 1–16. doi: 10.3389/fmolb.2022.839887.

16. TSUTSUI, Kazuyoshi *et al.* - Novel brain function: Biosynthesis and actions of neurosteroids in neurons. **Neuroscience Research**. ISSN 01680102. 36:4 (2000) 261–273. doi: 10.1016/S0168-0102(99)00132-7.

17. LIANG, Jennifer J.; RASMUSSEN, Ann M. - Overview of the Molecular Steps in Steroidogenesis of the GABAergic Neurosteroids Allopregnanolone and Pregnanolone. **Chronic Stress**. ISSN 24705470. 2:2018). doi: 10.1177/2470547018818555.

18. ALMEIDA, Felipe Borges; BARROS, Helena Maria Tannhauser; PINNA, Graziano - Neurosteroids and neurotrophic factors: What is their promise as biomarkers for major depression and PTSD? **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 14220067. 22:4 (2021) 1–12. doi: 10.3390/ijms22041758.

19. GUENNOUN, Rachida - Progesterone in the brain: Hormone, neurosteroid and neuroprotectant. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 14220067. 21:15 (2020) 1–21. doi: 10.3390/ijms21155271.

20. BASSANI, Taysa Bervian *et al.* - Progestogen-mediated neuroprotection in central nervous system disorders. **Neuroendocrinology**. ISSN 1423-0194. 2022). doi: 10.1159/000525677.

21. IADECOLA, Costantino; BUCKWALTER, Marion S.; ANRATHER, Josef - Immune

- responses to stroke: Mechanisms, modulation, and therapeutic potential. **Journal of Clinical Investigation**. ISSN 15588238. 130:6 (2020) 2777–2788. doi: 10.1172/JCI135530.
22. JAYARAJ, Richard L. *et al.* - Neuroinflammation: Friend and foe for ischemic stroke. **Journal of Neuroinflammation**. ISSN 17422094. 16:1 (2019) 1–24. doi: 10.1186/s12974-019-1516-2.
23. WU, Qiu Jing; TYMIANSKI, Michael - Targeting nmda receptors in stroke: New hope in neuroprotection Tim Bliss. **Molecular Brain**. ISSN 17566606. 11:1 (2018) 1–14. doi: 10.1186/s13041-018-0357-8.
24. PETRONE, Ashley B.; SIMPKINS, James W.; BARR, Taura L. - 17 $\beta$ -estradiol and inflammation: Implications for ischemic stroke. **Aging and Disease**. ISSN 21525250. 5:5 (2014) 340–345. doi: 10.14336/AD.2014.0500340.
25. TURGEON, Judith L. *et al.* - Complex actions of sex steroids in adipose tissue, the cardiovascular system, and brain: Insights from basic science and clinical studies. **Endocrine Reviews**. ISSN 0163769X. 27:6 (2006) 575–605. doi: 10.1210/er.2005-0020.
26. GIBSON, Claire L. *et al.* - Estrogens and experimental ischemic stroke: A systematic review. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**. ISSN 0271678X. 26:9 (2006) 1103–1113. doi: 10.1038/sj.jcbfm.9600270.
27. JIMÉNEZ, Monik C. *et al.* - Low dehydroepiandrosterone sulfate is associated with increased risk of ischemic stroke among women. **Stroke**. ISSN 00392499. 44:7 (2013) 1784–1789. doi: 10.1161/STROKEAHA.111.000485.
28. CAMPBELL, Bruce C. V. *et al.* - Ischaemic stroke. **Nature Reviews Disease Primers**. ISSN 2056676X. 5:1 (2019). doi: 10.1038/s41572-019-0118-8.
29. CÉSPEDES RUBIO, Ángel Enrique *et al.* - Sex steroid hormones as neuroprotective elements in ischemia models. **Journal of Endocrinology**. ISSN 14796805. 237:2 (2018) R65–R81. doi: 10.1530/JOE-18-0129.
30. HENDRIX, Susan L. *et al.* - Effects of conjugated equine estrogen on stroke in the Women's Health Initiative. **Circulation**. ISSN 00097322. 113:20 (2006) 2425–2434. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.594077.
31. CAMARGOS, Ana Letícia; NASCIMENTO, Elizabeth Do - Terapia de reposição hormonal e desempenho cognitivo na terceira idade. **Estudos de Psicologia (Campinas)**. 26:4 (2009) 437–443. doi: 10.1590/s0103-166x2009000400004.
32. MURPHY, Stephanie J.; TRAYSTMAN, Richard J.; HURN, Patricia D. - Progesterone

- exacerbates striatal stroke injury in progesterone- deficient female animals. **Stroke**. ISSN 00392499. 31:5 (2000) 1173–1178. doi: 10.1161/01.STR.31.5.1173.
33. MURPHY, Stephanie J.; LITTLETON-KEARNEY, Marguerite T.; HURN, Patricia D. - Progesterone administration during reperfusion, but not preischemia alone, reduces injury in ovariectomized rats. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**. ISSN 0271678X. 22:10 (2002) 1181–1188. doi: 10.1097/01.WCB.0000037990.07114.07.
34. DONAHOE - 基因的改变 NIH Public Access. **Molecular and Cellular Biochemistry**. 23:1 (2012) 1–7. doi: 10.1016/j.expneurol.2010.08.023.Progesterone.
35. HENDERSON, V. W. - Progesterone and human cognition. **Climacteric**. ISSN 14730804. 21:4 (2018) 333–340. doi: 10.1080/13697137.2018.1476484.
36. KELLEY, Melissa H. *et al.* - Ischemic insult to cerebellar Purkinje cells causes diminished GABA A receptor function and allopregnanolone neuroprotection is associated with GABAA receptor stabilization. **Journal of Neurochemistry**. ISSN 00223042. 107:3 (2008) 668–678. doi: 10.1111/j.1471-4159.2008.05617.x.
37. LI, Hui *et al.* - Dehydroepiandrosterone (DHEA) reduces neuronal injury in a rat model of global cerebral ischemia. **Brain Research**. ISSN 00068993. 888:2 (2001) 263–266. doi: 10.1016/S0006-8993(00)03077-8.
38. LI, Zhen *et al.* - DHEA-neuroprotection and -neurotoxicity after transient cerebral ischemia in rats. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**. ISSN 0271678X. 29:2 (2009) 287–296. doi: 10.1038/jcbfm.2008.118.
39. GUAN, Ruili *et al.* - Dehydroepiandrosterone alleviates hypoxia-induced learning and memory dysfunction by maintaining synaptic homeostasis. **CNS Neuroscience and Therapeutics**. ISSN 17555949. November 2021 (2022) 1339–1350. doi: 10.1111/cns.13869.
40. KUDOVA, Eva - Rapid effects of neurosteroids on neuronal plasticity and their physiological and pathological implications. **Neuroscience Letters**. ISSN 18727972. 750:February (2021) 135771. doi: 10.1016/j.neulet.2021.135771.
41. JOSHI, Suchitra; KAPUR, Jaideep - Neurosteroid regulation of GABAA receptors: A role in catamenial epilepsy. **Brain Research**. ISSN 18726240. 1703:2019) 31–40. doi: 10.1016/j.brainres.2018.02.031.
42. SOUSA, April; TICKU, Maharaj K. - Interactions of the neurosteroid dehydroepiandrosterone sulfate with the GABA(A) receptor complex reveals that it may act

via the picrotoxin site. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. ISSN 00223565. 282:2 (1997) 827–833.

43. BELELLI, D. *et al.* - Neuroactive steroids and inhibitory neurotransmission: Mechanisms of action and physiological relevance. **Neuroscience**. ISSN 03064522. 138:3 (2006) 821–829. doi: 10.1016/j.neuroscience.2005.07.021.

44. PARK-CHUNG, Mijeong *et al.* - Sulfated and unsulfated steroids modulate  $\gamma$ -aminobutyric acid(A) receptor function through distinct sites. **Brain Research**. ISSN 00068993. 830:1 (1999) 72–87. doi: 10.1016/S0006-8993(99)01381-5.

45. POISBEAU, Pierrick; GAZZO, Geraldine; CALVEL, Laurent - Anxiolytics targeting GABAA receptors: Insights on etifoxine. **World Journal of Biological Psychiatry**. ISSN 18141412. 19:sup1 (2018) S36–S45. doi: 10.1080/15622975.2018.1468030.

46. KUSSIUS, Cassandra L.; KAUR, Navjot; POPESCU, Gabriela K. - Pregnanolone sulfate promotes desensitization of activated NMDA receptors. **Journal of Neuroscience**. ISSN 02706474. 29:21 (2009) 6819–6827. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0281-09.2009.

47. LAU, Anthony; TYMIANSKI, Michael - Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration. **Pflugers Archiv European Journal of Physiology**. ISSN 00316768. 460:2 (2010) 525–542. doi: 10.1007/s00424-010-0809-1.

48. LÉVEILLÉ, F. *et al.* - Neuronal viability is controlled by a functional relation between synaptic and extrasynaptic NMDA receptors. **The FASEB Journal**. ISSN 0892-6638. 22:12 (2008) 4258–4271. doi: 10.1096/fj.08-107268.

49. POPESCU, Gabriela K.; MURTHY, Swetha; BORSCHHEL, William F. - Allosteric inhibitors of NMDA receptor functions. **Pharmaceuticals**. ISSN 14248247. 3:10 (2010) 3240–3257. doi: 10.3390/ph3103240.