

**10 β ,17 β -Dihidroiestra-1,4-dien-3-ona e
compostos análogos: revisão das suas
potenciais utilidades farmacológicas**

**Experiência Profissionalizante na vertente de
Farmácia Comunitária e Investigação**

Teresa Isabel Vermelho Letras

Relatório para obtenção do Grau de Mestre em
Ciências Farmacêuticas
(mestrado integrado)

Orientador: Professor Doutor Samuel Martins Silvestre
Co-orientadora: Mestre Cristina Monteiro

outubro de 2022

Declaração de Integridade

Eu, Teresa Isabel Vermelho Letras, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição 35781 do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências da Saúde, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o Código de Integridades da Universidade da Beira Interior.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, que em particular atendi à exigida referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assumindo na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã 07/10/2022

Teresa Letras

Agradecimentos

Começo por agradecer à minha mãe, a pessoa que tornou isto possível, por todos os sacrifícios que faz por mim e pelo apoio e amor incondicional.

À minha irmã, pela cumplicidade, paciência e motivação.

E a toda a minha família, pelo apoio.

Ao Alexandre, pela paciência, apoio e carinho, principalmente nos últimos meses.

Aos amigos que me acompanharam nesta etapa, pelo companheirismo e por tornarem os últimos anos inesquecíveis.

Ao meu orientador professor doutor Samuel Silvestre e co-orientadora Cristina Monteiro, pela dedicação e disponibilidade para me auxiliarem ao longo do trabalho.

Ao Doutor Carlos Queija Ferreira e à restante equipa da Farmácia Queija Ferreira, pela forma amistosa como me receberam e pelos conhecimentos transmitidos durante o estágio.

Resumo

A presente dissertação está integrada na unidade curricular “Estágio”, do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Este trabalho é composto por duas componentes: a componente de investigação (Capítulo I) e a componente profissional em farmácia comunitária (Capítulo II).

O primeiro capítulo corresponde à revisão da literatura sobre os efeitos farmacológicos em ensaios pré-clínicos do $10\beta,17\beta$ -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona, $10\beta,17\alpha$ -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona e 10β -hidroxiestra-1,4-dieno-3,17-diona, que são pró-fármacos do estradiol, 17α -estradiol e estrona, respetivamente. O $10\beta,17\beta$ -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona originou um melhor desempenho no teste comportamental RAWN e uma redução dos níveis de $A\beta$, no contexto da doença de Alzheimer; atenuou o aumento da temperatura da pele da cauda, em afrontamentos; e, foi metabolizado em estradiol na retina, no contexto do glaucoma. O $10\beta,17\alpha$ -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona reduziu os tempos de imobilidade no teste de natação de Porsolt, apresentado, assim, atividade antidepressiva. O $10\beta,17\beta$ -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona e o $10\beta,17\alpha$ -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona não apresentaram os efeitos secundários periféricos associados aos estrogénios, sendo, assim, potenciais candidatos a terapêuticas estrogénicas seguras e eficazes nas doenças acima referidas. O 10β -hidroxiestra-1,4-dieno-3,17-diona apresentou efeitos anti-proliferativos em seis linhas celulares (MCF-7, T47-D, LNCaP, HepaRG, Caco-2 e NHDF), principalmente contra as células cancerígenas hormono-dependentes (MCF-7, T47-D e LNCaP).

O segundo capítulo é referente ao estágio curricular em farmácia comunitária, na Farmácia Queija Ferreira, no Porto. Durante o estágio, tive a oportunidade de colocar em prática os conhecimentos técnico-científicos adquiridos no mestrado integrado e, de melhorar as minhas competências interpessoais.

Palavras-chave

$10\beta,17\beta$ -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona; $10\beta,17\alpha$ -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona; 10β -hidroxiestra-1,4-dieno-3,17-diona;farmácia comunitária

Abstract

This dissertation is part of the curricular unit “Internship”, of the Integrated Master in Pharmaceutical Sciences. This work consists in two components: the research component (Chapter I) and the professional component in community pharmacy (Chapter II).

The first chapter corresponds to the literature review about the pharmacological effects in preclinical trials of $10\beta,17\beta$ -dihydroxyestra-1,4-dien-3-one, $10\beta,17\alpha$ -dihydroxyestra-1,4-dien-3-one and 10β -hydroxyestra-1,4-diene-3,17-dione, which are prodrugs of estradiol, 17α -estradiol and estrone, respectively. The $10\beta,17\beta$ -dihydroxyestra-1,4-dien-3-one resulted in a better performance in the RAWN behavioral test and a reduction in $A\beta$ levels, in the context of Alzheimer's disease; attenuated the increase in tail skin temperature in hot flashes; and, was metabolized to estradiol in the retina, in the context of glaucoma. The $10\beta,17\alpha$ -dihydroxyestra-1,4-dien-3-one reduced immobility times in the Porsolt swimming test, thus showing antidepressant activity. The $10\beta,17\beta$ -dihydroxyestra-1,4-dien-3-one and the $10\beta,17\alpha$ -dihydroxyestra-1,4-dien-3-one did not show the peripheral side effects associated with estrogens, thus being potential candidates for safe and effective estrogenic therapies in the diseases mentioned above. 10β -hydroxyestra-1,4-diene-3,17-dione showed anti-proliferative effects in six cell lines (MCF-7, T47-D, LNCaP, HepaRG, Caco-2 and NHDF), mainly against cancer cells hormone-dependent (MCF-7, T47-D and LNCaP).

The second chapter refers to the curricular internship in community pharmacy, at Farmácia Queija Ferreira, in Porto. During the internship. I had the opportunity to put into practice the technical-scientific knowledge acquired in the integrated master's degree and to improve my interpersonal skills.

Keywords

$10\beta,17\beta$ -dihydroxyestra-1,4-dien-3-one; $10\beta,17\alpha$ -dihydroxyestra-1,4-dien-3-one; 10β -hydroxyestra-1,4-dien-3,17-dione;community pharmacy

Índice

Capítulo 1 – $10\beta,17\beta$ -Dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona e compostos análogos: revisão das suas potenciais utilidades farmacológicas.....	1
1. Introdução e contextualização teórica: Estrogénios	1
1.1. Biossíntese dos estrogénios	2
1.2. Metabolismo dos estrogénios.....	3
1.3. Recetores de estrogénios.....	4
1.4. Mecanismos de sinalização dos estrogénios	5
1.5. Atividades biológicas e aplicações terapêuticas atuais e potenciais dos estrogénios	6
1.5.1 Estrogénios e a contraceção	6
1.5.2. Menopausa e terapia de reposição de estrogénios	6
1.5.2.1. Afrontamentos	7
1.5.2.1.1. Etiologia e fisiopatologia dos afrontamentos.....	8
1.5.2.1.2. Terapêuticas atuais e em desenvolvimento para os afrontamentos	9
1.5.3. Estrogénios e o sistema nervoso central	10
1.5.3.1. Doença de Alzheimer.....	11
1.5.3.1.1. Etiologia e fisiopatologia da doença de Alzheimer	12
1.5.3.1.2. Terapêuticas atuais e em desenvolvimento para a doença de Alzheimer ...	13
1.5.3.2. Depressão.....	15
1.5.3.2.1. Etiologia e fisiopatologia da depressão	15
1.5.3.2.2. Terapêuticas atuais e em desenvolvimento para a depressão	16
1.5.4. Estrogénios e o cancro	17
1.5.5. Outros potenciais usos dos estrogénios	19
1.5.5.1. Neurodegeneração ocular (glaucoma)	19
1.5.5.1.1. Etiologia e fisiopatologia do glaucoma	19
1.5.5.1.2. Terapêuticas atuais e em desenvolvimento para o glaucoma	20
1.5.6. Riscos associados ao uso dos estrogénios clássicos e desenvolvimento de novos compostos estrogénicos	21
2. Objetivos	22
3. Métodos	22
4. Pró-fármacos bioprecursores dos estrogénios com estrutura <i>para</i> -quinol	22
4.1. Mecanismo de ação e a sua bioconversão no sistema nervoso central.....	23
5. O $10\beta,17\beta$ -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona	24
5.1. Patentes do $10\beta,17\beta$ -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona	25
5.2. Seletividade do $10\beta,17\beta$ -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona para o sistema nervoso central.....	25
5.3. Atividade biológica do $10\beta,17\beta$ -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona em ensaios pré-clínicos	27
5.3.1. Efeitos do $10\beta,17\beta$ -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona na doença de Alzheimer....	28
5.3.2. Efeitos do $10\beta,17\beta$ -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona nos afrontamentos	31
5.3.3. Efeitos do $10\beta,17\beta$ -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona no glaucoma	35
6. O $10\beta,17\alpha$ -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona	38
6.1. Potencial atividade antidepressiva do $10\beta,17\alpha$ -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona ...	39
7. O 10β -hidroxiestra-1,4-dieno-3,17-diona	40
7.1. Potencial atividade anticancerígena do 10β -hidroxiestra-1,4-dieno-3,17-diona .	41
8. Conclusões e perspetivas futuras.....	42
9. Referências bibliográficas	43
Capítulo II – Experiência profissionalizante na vertente de farmácia comunitária	50

1. Introdução	50
2. Farmácia Queija Ferreira	51
2.1. Localização.....	51
2.2. Horário de funcionamento.....	51
2.3. Espaço exterior.....	52
2.4. Espaço interior.....	52
2.5. Recursos humanos.....	53
2.6. Sistema informático.....	54
3. Aprovisionamento e armazenamento	54
3.1. Fornecedores e critérios de seleção de um fornecedor.....	54
3.2. Elaboração de encomendas	55
3.3. Receção e conferência de encomendas	56
3.4. Gestão de stocks	56
3.5. Armazenamento	57
3.6. Controlo dos prazos de validade	58
3.7. Devoluções	58
4. Dispensa de medicamentos.....	59
4.1. Dispensa de medicamentos sujeitos a receita médica	59
4.1.1. Receitas médicas e respetiva validação.....	59
4.1.2. Regimes de comparticipação.....	61
4.1.3. Dispensa de estupefacientes e psicotrópicos.....	62
4.2. Dispensa de medicamentos não sujeitos a receita médica	63
5. Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde.....	64
5.1. Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene	64
5.2. Produtos dietéticos para alimentação especial e infantil.....	65
5.3. Fitoterapia e suplementos nutricionais.....	66
5.4. Medicamentos de uso veterinário.....	66
5.5. Dispositivos médicos.....	67
6. Cuidados de saúde prestados na Farmácia Queija Ferreira.....	68
6.1. Determinação de parâmetros bioquímicos e fisiológicos.....	68
6.2. Administração de medicamentos injetáveis e vacinas não incluídas no plano nacional de vacinação.....	68
6.3. Preparação individualizada da medicação.....	69
6.4. Valormed.....	69
7. Preparação de medicamentos.....	70
7.1. Preparação de manipulados.....	70
7.2. Preparações extemporâneas.....	70
8. Conclusão	71
9. Referências bibliográficas	71

Lista de Figuras

Figura 1: Estrutura química dos estrogénios endógenos	2
Figura 2: Estrutura química do DHED, α DHED e HEDD, os pró-fármacos bioprecursores do E2, α -E2 e E1, respetivamente	23
Figura 3: Bioconversão do pró-fármaco <i>para</i> -quinol no estrogénio correspondente no sistema nervoso central	24

Lista de Tabelas

Tabela 1: Afinidade para os ERs, ligação às proteínas plasmáticas, lipofilicidade (logaritmo do coeficiente de partição n-octanol/água) e solubilidade aquosa de E2 e DHED	25
Tabela 2: Níveis de E2 na retina e no soro, após tratamento com colírio contendo apenas veículo, colírio de DHED ou de E2 (1vez por dia, durante 3 semanas), ou colírio de DHED em dose única. Os tecidos foram recolhidos 24 horas após o tratamento (n=10 para o soro e n=5 para a retina)	37
Tabela 3: Afinidade do α -DHED, α E2 e E2 para os ERs (ER α e ER β)	39
Tabela 4: Valores de IC ₅₀ estimados para o HEDD nas linhas de células cancerígenas (MCF-7, T47-D, LNCaP, HepaRG e Caco-2) e nas células normais NHDF	41

Lista de Acrónimos

17 β -HSD	17 β -hidroxiesteroide desidrogenase
3 β -HSD	3 β -hidroxiesteroide desidrogenase
5-FU	5-fluorouracilo
5-HT	Serotonina
Ach	Acetilcolina
ADT	Terapia de privação androgénica
ApoE	Apolipoproteína E
APP	Proteína precursora amilóide
ATC	Anatómico-Terapêutico-Químico
AVC	Acidente vascular cerebral
A β	Beta-amilóide
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
BHE	Barreira hematoencefálica
ChAT	Colina acetiltransferase
ChAT-IR	Neurónios imunorreativos de colina acetiltransferase
ChEI	Inibidor da acetilcolinesterase
CNP	Código Nacional do Produto
CNPM	Código Nacional para a Prescrição Eletrónica de Medicamentos
COMT	Catecol-O-metiltransferase
DA	Doença de Alzheimer
DCI	Denominação Comum Internacional
DGAV	Direção Geral de Alimentação e Veterinária
DHED	10 β ,17 β -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona
DIU	Dispositivo intrauterino
DT	Diretor Técnico
DTG	Duplo transgénico APPswe/PS1dE9
E1	Estrona
E2	Estradiol
E3	Estriol
E4	Estetrol
EE	Etinilestradiol
ER	Recetor de estrogénios
ERE	Elemento de resposta aos estrogénios
ER- α	Recetor alfa de estrogénios
ER- β	Recetor beta de estrogénios
ESR	Gene dos recetores de estrogénios
FDA	Do inglês <i>Food and Drug Administration</i>
FQF	Farmácia Queija Ferreira
FSH	Hormona folículo estimulante
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GnRH	Hormona libertadora de gonadotrofinas
GPER	Recetor de estrogénios acoplado à proteína G
HEDD	10 β -hidroxiestra-1,4-dieno-3,17-diona
HP β CD	2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina

ICI 182.780	Fulvestrant
IV	Administração intravenosa
LC-MS/MS	Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LH	Hormona luteinizante
LTED	Privação de longo prazo de E2
MAPK	Proteína cinase ativada por mitogénio
MNSRM	Medicamento Não Sujeito a Receita Médica
MNSRM-EF	Medicamento Não Sujeito a Receita Médica de Dispensa Exclusiva em Farmácia
MPE	Medicamentos Psicotrópicos e Estupefacientes
MSRM	Medicamento Sujeito a Receita Médica
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NMDA	N-metil D-aspartato
NTF	Emaranhados neurofibrilares
NTG	Não transgénicos
ORDX	Orquidectomizados
OVX	Ovariectomizados
PHF	Filamentos helicoidais emparelhados
PI3K	Fosfatidilinositol-3-cinase
PIO	Pressão intraocular
PNV	Plano Nacional de Vacinação
P.O	Administração oral
PR	Recetor de progesterona
PSEN-1	Presenilina-1
PSEN-2	Presenilina-2
PVF	Preço de Venda à Farmácia
PVP	Preço de Venda ao Público
RAWM	Labirinto aquático de braço radial
SAMS	Serviço de Assistência Médico-Social
S.C	Administração Subcutânea
SI	Sistema informático
SNC	Sistema nervoso central
SNS	Serviço Nacional de Saúde
STARD1 ou StAR	Proteína reguladora aguda estrogénica
TRE	Terapia de reposição de estrogénios
TST	Temperatura da pele da cauda
α -DHED	10 β ,17 α -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona
α -E2	17 α -estradiol

Capítulo 1 – 10 β ,17 β -Dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona e compostos análogos: revisão das suas potenciais utilidades farmacológicas

1. Introdução e contextualização teórica: Estrogénios

Os estrogénios são hormonas sexuais femininas, responsáveis pelo funcionamento do sistema reprodutor feminino e pelo desenvolvimento das características sexuais secundárias durante a puberdade. Regulam também várias funções não reprodutoras, nomeadamente no metabolismo mineral e ósseo, sistema cardiovascular, cognição e memória, alterações de humor, e progressão de doenças associadas à idade. Os estrogénios endógenos compreendem a estrona (E1), o estradiol (E2, também chamado de 17 β -estradiol), o estriol (E3) e o estetrol (E4), sendo o estradiol o estrogénio fisiologicamente mais ativo (1,2).

Quimicamente, os estrogénios endógenos são esteroides C₁₈, pois são constituídos por 18 carbonos (C₁₈H₂₄O₂). Os esteroides consistem em 4 anéis fundidos (anel A, B, C e D) e caracterizam-se por terem em comum uma estrutura ciclopentano-peridro-fenantreno, formada por um anel ciclopentano (anel D) ligado a um fenantreno (composto pelos anéis benzeno A, B e C fundidos). Um perhidrofenantreno (anéis A, B e C) é o derivado saturado do fenantreno (3).

Os estrogénios distinguem-se dos restantes esteroides por terem o anel A aromático com um grupo hidroxilo na posição C₃. A estrona é constituída por um grupo cetona em C₁₇, o estradiol por um grupo hidroxilo em C₁₇, o estriol por dois grupos hidroxilo em C₁₆ e C₁₇, e o estetrol por três grupos hidroxilos em C₁₅, C₁₆ e C₁₇ (Figura 1) (1,3).

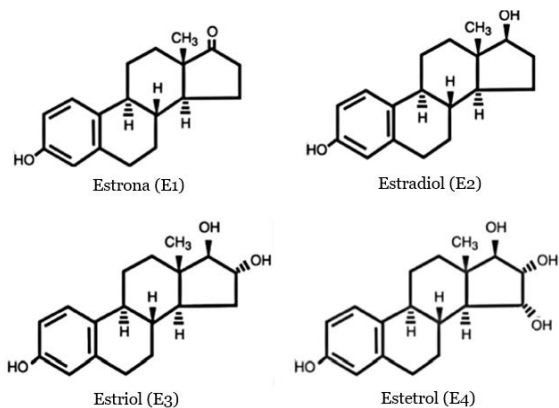


Figura 1: Estrutura química dos estrogénios endógenos. Adaptado de Fuentes et al (1)

1.1. Biossíntese dos estrogénios

As hormonas esteroides são derivadas do colesterol, mais precisamente do colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL). A esteroidogénese é o processo através do qual o colesterol é convertido nas hormonas esteroides de 21 (progesterona), 19 (androgénios) e 18 (estrogénios) carbonos (3,4).

A primeira etapa da esteroidogénese consiste na captação do colesterol para a membrana interna da mitocôndria pela proteína reguladora aguda estrogénica, também conhecida por STARD1 ou StAR, que atua como uma enzima de transporte. Na membrana interna da mitocôndria, o colesterol é convertido em pregnenolona pela enzima de clivagem da cadeia lateral P450 (P450sc), uma CYP11A1 (1,3,5).

A pregnenolona pode ser convertida pela enzima 17 α -hidroxilase (CYP17A1) em desidroepiandrosterona (DHEA), e esta em androstenodiona pela enzima 3 β -hidroxiesteroide desidrogenase (3 β -HSD). A pregnenolona pode também seguir outra via e ser convertida em progesterona pela 3 β -HSD, e a progesterona em androstenodiona pela CYP17A1 (1,3,5).

A androstenodiona pode ser convertida em testosterona, ou difundir-se para as células da granulosa através da lâmina basal. A androstenodiona pela ação da 17 β -hidroxiesteroide desidrogenase tipo 3 (17 β -HSD3) é convertida em testosterona, que é convertida em estradiol pela aromatase. Nas células da granulosa, a androstenodiona é convertida em estrona pela enzima CYP19A1 (aromatase) e, a estrona é convertida em estradiol pela enzima 17 β -HSD1. Nas células da granulosa, a expressão da aromatase e da 17 β -HSD é controlada pela estimulação da hormona folículo estimulante (FSH) (1,3,5).

A biossíntese de estrogénios varia de acordo com o período hormonal da mulher (pré-menopausa ou pós-menopausa). O estradiol é predominante durante a pré-menopausa, a estrona é encontrada em níveis mais elevados durante a menopausa, e o estriol e o estetrol são maioritariamente produzidos na gravidez. Os estrogénios são produzidos principalmente nos ovários e em menor quantidade em tecidos extra-gonadais como as glândulas adrenais, cérebro, fígado, pâncreas, tecido adiposo, pele e mama. No entanto, os tecidos extra-gonadais não são capazes de sintetizar esteroides C19 a partir do colesterol, mas convertem esteroides C19 em estrogénios através da ação da aromatase. Assim, a biossíntese de estrogénios nestes tecidos está dependente de uma fonte externa de precursores esteroides C19 e da expressão da aromatase local (1,5–7).

O estradiol é produzido principalmente pelas células da granulosa dos ovários e pelos corpos lúteos, através dos mecanismos acima indicados, mas é também produzido em locais não gonadais como as glândulas adrenais, cérebro, tecido adiposo, pele e pâncreas. O estetrol é produzido apenas durante a gravidez no fígado fetal, atingindo a circulação materna através da placenta. O estriol é sintetizado principalmente durante a gravidez na placenta, fígado fetal e glândulas adrenais, e em mulheres que não estão grávidas é produzido no fígado através da hidroxilação do estradiol ou da estrona. A estrona é sintetizada através da aromatização da androstenodiona em tecidos extra-glandulares, e também pode ser convertida em estradiol pela 17β -HSD em tecidos extra-gonadais como o tecido adiposo, cérebro, mama e ossos, onde é metabolizada ou entra na circulação em pequenas quantidades (1,8).

Os homens também produzem estrogénios através da aromatização da testosterona em células do sistema reprodutor como as células de Sertoli, células de Leydig e espermátócitos maduros (7).

1.2. Metabolismo dos estrogénios

O metabolismo dos estrogénios nos seus conjugados sulfatos e glucoronídeos solúveis em água ocorre principalmente no fígado, e sua excreção através da urina, fezes e /ou biliar (3,5).

Na fase I do metabolismo, o estradiol e a estrona são hidroxilados nas posições C2, C4 e C16 em estrogénios catecólicos (2-hidroxiestradiol, 4-hidroxiestradiol, 2-hidroxiestrona, 4-hidroxiestrona e 16 α -hidroxiestrona), pelas enzimas CYP1A1, CYP1B1

e CYP1A2 que são altamente expressas no fígado, pelo que uma grande parte do metabolismo dos estrogénios ocorre no fígado (3,5).

Na fase II, os estrogénios catecólicos sofrem metilação pela enzima catecol-O-metiltransferase (COMT) em metoxiestrogénios (2-metoxiestradiol, 4-metoxiestradiol, 2-metoxiestrona e 4-metoxiestrona) (3,5).

Os estrogénios originais e os estrogénios catecólicos podem ainda ser conjugados através de reações de sulfatação ou glucoronidação, pelas enzimas sulfotransferases ou por glucoroniltransferases, respetivamente. Através das reações de conjugação os compostos estrogénicos tornam-se muito mais solúveis em água, o que facilita a sua excreção na urina ou nas fezes (5,9).

1.3. Recetores de estrogénios

Os estrogénios exercem as suas ações através da ligação a recetores de estrogénios (ERs), que estão expressos em vários tecidos e controlam a expressão génica. Existem dois tipos de ERs: os recetores nucleares (ER α e ER β), e os recetores de membrana (recetor de estrogénios acoplado à proteína G, GPER) (10).

Os recetores nucleares, ER α e ER β , funcionam como fatores de transcrição ativados pelo ligando, regulando a transcrição de genes-alvo através da ligação ao DNA. ER α e ER β são expressos em vários tecidos e controlam funções fisiológicas em vários sistemas de órgãos como no sistema reprodutor, nervoso central, cardiovascular e o esquelético. ER α está presente principalmente na glândula mamária, útero, ovários (células da teca), ossos, órgãos reprodutores masculinos (testículos e epidídimo), próstata (estroma), fígado e tecido adiposo. ER α tem um papel mais revelante nas glândulas mamárias, no útero, na preservação da homeostase esquelética e na regulação do metabolismo. Enquanto, ER β é expresso maioritariamente na próstata (epitélio), bexiga, ovários (células da granulosa), tecido adiposo e sistema imunológico. ER β tem um efeito mais marcado no sistema nervoso central (SNC) e imunológico, e geralmente neutraliza a hiperproliferação celular promovida por ER α . Ambos os subtipos são marcadamente expressos no SNC e no sistema cardiovascular. Existem algumas funções fisiológicas comuns aos dois subtipos, como no desenvolvimento e funcionamento dos ovários (11–13).

O GPER é um recetor de estrogénios acoplado à proteína G na membrana celular, associado a mecanismos de sinalização não-genómica com respostas rápidas e que envolvem a ativação de cascatas de sinalização intracelular. GPER possui baixa

afinidade de ligação ao estradiol comparativamente aos recetores nucleares. GPER é expresso na glândula mamária, ovários, útero, testículos, fígado, SNC, glândulas supra-renais, tecido ósseo, sistema cardiovascular e sistema imunitário (1,13,14).

1.4. Mecanismos de sinalização dos estrogénios

A sinalização celular mediada pelos estrogénios pode ser classificada como genómica ou não-genómica, dependendo se o complexo ER-estrogénio se liga direta ou indiretamente ao DNA. A sinalização genómica envolve a migração do complexo ER-estrogénio para o núcleo da célula e a interação direta com sequências específicas de DNA, os elementos de resposta aos estrogénios (EREs). A sinalização genómica divide-se ainda em direta (via clássica) e indireta (via não clássica). Enquanto, a sinalização não-genómica envolve a regulação indireta da expressão génica através de eventos de sinalização intracelular (1,10).

A sinalização genómica direta é considerada o mecanismo clássico de sinalização dos estrogénios. O E2 liga-se ao recetor nuclear (ER α ou ER β) no citoplasma das células, levando a uma mudança conformacional, a dimerização do recetor (homo- ou heterodímeros) e a migração para o núcleo. No núcleo, o complexo ER-E2 liga-se aos EREs nos genes alvo e recruta co-reguladores, promovendo a transcrição génica. O complexo ER-E2 atua como um fator de transcrição que promove a expressão dos genes alvo (1,13).

A sinalização genómica indireta ocorre quando os genes alvo não contêm EREs nas suas regiões promotoras. O complexo ER-E2 não se liga diretamente ao DNA, em vez disso, atua através de interações proteína-proteína com outros fatores de transcrição e elementos de resposta dos fatores de transcrição para regular a expressão génica (1,14).

A sinalização não genómica está associada à ativação de cascatas de sinalização intracelulares e à fosforilação de fatores de transcrição que resultam em respostas rápidas na expressão génica. É frequentemente associada ao recetor de membrana GPER, mas os ER α e ER β também se encontram envolvidos. A ligação do estrogénio ao ER localizado na superfície celular pode resultar na produção de AMPc, mobilização de cálcio intracelular e ativação de várias cascatas de sinalização, nomeadamente da proteína cinase ativada por mitogénio (MAPK), da fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K) e fosfolipase C. A mobilização de cálcio intracelular resulta em efeitos não genómicos rápidos adaptando a célula a respostas imediatas, enquanto a sinalização genómica é mais lenta e adapta a célula a efeitos de longo prazo (10,13,14).

1.5. Atividades biológicas e aplicações terapêuticas atuais e potenciais dos estrogénios

1.5.1 Estrogénios e a contraceção

A contraceção é importante para prevenir uma gravidez indesejada e envolve frequentemente o uso de estrogénios combinados com progestagénios (mais habitual) ou só progestagénios. As combinações de estrogénios e progestagénios existem na forma de comprimidos, adesivos e anéis vaginais. Os métodos só com progestagénios incluem comprimidos, implantes, dispositivos intrauterinos (DIUs) e injetáveis. Os métodos não hormonais incluem o DIU de cobre e métodos de barreira como os preservativos e diafragmas (15,16).

O principal mecanismo de ação dos contraceptivos hormonais é a inibição do desenvolvimento folicular e a prevenção da ovulação. O feedback negativo dos progestagénios diminui a secreção da hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH), o que, conseqüentemente, diminui a secreção da FSH e da hormona luteinizante (LH). O folículo não se desenvolve e não há aumento dos níveis de estradiol (o folículo produz estradiol). O feedback negativo dos progestagénios e dos estrogénios interrompem o pico de LH que ocorre a meio do ciclo menstrual. O feedback negativo dos estrogénios na hipófise anterior também diminui a secreção de FSH, o que inibe o desenvolvimento folicular. Sem o folículo desenvolvido e sem o aumento de LH para libertar o folículo, não existe ovulação (16).

Os principais compostos estrogénicos usados nos contraceptivos combinados são o etinilestradiol (EE) e o valerato de estradiol. Na maioria dos contraceptivos combinados, o composto estrogénico é o EE (15). O maior risco dos contraceptivos combinados é o aumento de eventos trombóticos venosos (17).

Os contraceptivos combinados não são recomendados a mulheres com as seguintes condições: história de trombose venosa ou embolia pulmonar; história de acidente vascular cerebral (AVC) ou doença arterial coronária; história de cancro dependente de estrogénio, incluindo cancro da mama; hipertensão; doença hepática (hepatite, cirrose, cancro do fígado) (15).

1.5.2. Menopausa e terapia de reposição de estrogénios

A menopausa é um processo biológico e natural na mulher caracterizado pelo fim dos ciclos menstruais, redução dos folículos e da produção de estrogénios pelos ovários (18). As hormonas sexuais circulantes diminuem no decorrer do envelhecimento, mais rapidamente na menopausa nas mulheres e mais lentamente nos homens (14).

A fase de transição da pré-menopausa para a pós-menopausa designada climatério é caracterizada por sintomas incómodos para a mulher que afetam a sua qualidade de vida tanto a nível pessoal, social como profissional. Estes sintomas resultam da condição hipoestrogénica e incluem alterações vasomotoras como afrontamentos e suores noturnos, insónia, fadiga, atrofia vulvovaginal, secura vaginal, diminuição da libido, sintomas depressivos e dificuldades cognitivas, nomeadamente na memória (18–20).

A menopausa está associada a um risco de declínio cognitivo, descrito frequentemente por mulheres na menopausa, e conseqüentemente um aumento do risco de desenvolver doença de Alzheimer (DA). A transição para a menopausa está negativamente associada à atenção e à memória verbal e de trabalho. Mulheres na pré-menopausa submetidas a ovariectomia têm também uma maior probabilidade de desenvolver demência (14).

A terapia de reposição de estrogénios (TRE), uma forma de terapia hormonal de substituição, é útil nos sintomas causados pela menopausa. A terapia com estrogénios pode dividir-se em quatro grupos, em função das formas farmacêuticas: estrogénios orais na forma de comprimidos, estrogénios transdérmicos, cremes e supositórios. Exemplos de estrogénios orais incluem estrogénios esterificados, estrogénios equinos conjugados, EE e E2. A terapia estrogénica não oral existe sob a forma de E2 (21).

1.5.2.1. Afrontamentos

Os afrontamentos são sintomas vasomotores e consistem numa sensação de calor intenso, sudorese e rubor, que normalmente afetam a face, pescoço e torác, e que podem ser acompanhados por palpitações e ansiedade. Geralmente, têm duração entre 1 a 5 minutos, podendo alguns durar até 1 hora (22,23). Em média, duram aproximadamente 10 anos, com uma maior duração em mulheres com um início mais precoce. Os afrontamentos são o sintoma mais comum da menopausa, sendo relatados por cerca de 80% das mulheres (24), o que justificou a sua inclusão na secção 1.5.2. Os afrontamentos são também comuns em homens com hipogonadismo grave. Aproximadamente 70% dos homens submetidos a terapia de privação androgénica (ADT) para o tratamento do cancro da próstata referem afrontamentos (25).

Muitas vezes, os afrontamentos afetam negativamente a qualidade de vida das pessoas, pois estão associados a desconforto físico, distúrbios de sono e, conseqüentemente, cansaço e irritabilidade (19).

1.5.2.1.1. Etiologia e fisiopatologia dos afrontamentos

Os fatores de risco dos afrontamentos incluem a menopausa, ovariectomia, histerectomia, ansiedade ou depressão, tratamento para o cancro da mama (terapêutica anti-estrogénica), tratamento para o cancro da próstata (ADT) e tabagismo (24).

O mecanismo fisiopatológico dos afrontamentos não está totalmente esclarecido. A teoria mais aceite afirma que os afrontamentos em mulheres na menopausa resultam do estreitamento da zona termorreguladora pelo sistema termorregulador (19,24).

O sistema termorregulador localiza-se na área pré-ótica do hipotálamo e mantém a temperatura corporal central dentro de uma faixa homeostática, a zona termorreguladora. O aumento da temperatura corporal central acima do limite superior da zona termorreguladora resulta na dissipação do calor através de vasodilatação cutânea e sudorese. Por outro lado, a diminuição da temperatura corporal central abaixo do limite inferior da zona termorreguladora resulta em vasoconstrição cutânea e na produção de calor através de calafrios. Estes mecanismos fisiológicos são essenciais para a manutenção da homeostase térmica (23,26).

Estudos indicam que os neurónios termorreguladores são afetados por estrogénios, noradrenalina e serotonina (5-HT). Foi sugerido que os estrogénios e os androgénios afetam os níveis de noradrenalina e 5-HT no cérebro, ambos envolvidos na regulação da homeostase da temperatura corporal no hipotálamo. À medida que os níveis de estrogénio diminuem na menopausa, os níveis de noradrenalina aumentam, os níveis de 5-HT diminuem e ocorre uma sobrerregulação dos recetores de 5-HT no hipotálamo. A ativação das vias noradrenérgicas e serotoninérgicas pode estreitar ainda mais o limiar superior da zona termorreguladora, o que resulta numa maior probabilidade de ocorrerem afrontamentos (27–29).

Em homens com cancro da próstata submetidos a ADT, os afrontamentos resultam da diminuição do feedback da testosterona no hipotálamo. A deficiência de estrogénios em homens é consequência da privação de androgénios, pois os estrogénios são produzidos a partir da testosterona. O E2 é sintetizado a partir da testosterona através da enzima aromatase (26,30).

1.5.2.1.2. Terapêuticas atuais e em desenvolvimento para os afrontamentos

O tratamento para alívio dos sintomas baseia-se no tratamento hormonal de substituição, com estrogénios em monoterapia ou em associação com progestagénios, ou no tratamento não hormonal, com inibidores seletivos da recaptção de 5-HT, gabapentina e clonidina (22).

O tratamento hormonal de substituição, com estrogénios em monoterapia ou combinado com progestagénios, é o tratamento mais eficaz no alívio dos afrontamentos e é aprovado pela FDA. Os medicamentos à base de estrogénios devem ser administrados na menor dose eficaz e pelo menor período de tempo necessário para melhorar os sintomas. O tratamento hormonal de substituição aumenta o risco de patologias dependentes de estrogénios, como cancro da mama, cancro do endométrio, doença cardiovascular e tromboembolismo, pelo que pessoas com história clínica destas patologias não devem fazer tratamento hormonal. Apesar da eficácia dos estrogénios, existem pessoas com contraindicações e pessoas que optam por não fazer este tipo de tratamento devido aos potenciais efeitos secundários, e recorrem a tratamentos não hormonais, que apresentam baixa eficácia, geralmente um pouco acima do efeito placebo, e também causam efeitos colaterais (28,31,32).

O único medicamento não hormonal aprovado para o tratamento dos afrontamentos é a paroxetina, na dose de 7,5 mg diária por via oral. A paroxetina é um inibidor seletivo da recaptção de 5-HT, e é utilizada principalmente como antidepressivo. Os efeitos adversos mais comuns da paroxetina são sonolência e boca seca. Pessoas a tomar tamoxifeno (normalmente utilizado em cancro da mama, como antagonista dos ERs) não devem usar paroxetina, pois a paroxetina inibe a CYP2D6, que está envolvida no metabolismo do tamoxifeno, diminuindo assim a eficácia deste (uma vez que o seu metabolito hidroxilado é mais potente que o tamoxifeno) (28,31–33).

Outras alternativas não hormonais incluem a gabapentina e a clonidina. A gabapentina é usada principalmente como anticonvulsante, e é indicada normalmente em afrontamentos noturnos, dado o seu efeito sedativo (22,23). Alguns dos efeitos adversos da gabapentina incluem náuseas, tonturas, sonolência e perda de equilíbrio (27,32). A clonidina é um agonista adrenérgico α_2 , principalmente indicada no tratamento da hipertensão e está associada a efeitos adversos como boca seca, hipotensão, tonturas e sonolência (22,31). Tanto a gabapentina como a clonidina mostraram alguma eficácia relativamente ao placebo, no entanto, apresentam efeitos

adversos significativos que limitam a sua utilização no tratamento dos afrontamentos (32).

Como referido acima, a terapia hormonal de substituição com estrogénios em monoterapia ou em associação, é a terapêutica mais eficaz no alívio dos afrontamentos; no entanto, devido aos seus efeitos secundários, muitas pessoas recorrem a tratamentos não hormonais, com uma menor eficácia. Assim, é necessário o desenvolvimento de terapêuticas estrogénicas eficazes e seguras, que não possuam os efeitos secundários periféricos associados aos estrogénios (34).

1.5.3. Estrogénios e o sistema nervoso central

Os estrogénios possuem um importante papel no normal funcionamento do sistema nervoso, têm efeitos cognitivos, neuroprotetores e anti-inflamatórios (35,36). Estão envolvidos em vários processos no sistema nervoso, nomeadamente na sinaptogénese, plasticidade neuronal, proteção contra o stress oxidativo, resposta inflamatória e indução de fatores de crescimento. Os efeitos benéficos dos estrogénios a nível neuronal resultam de uma combinação sinérgica de ações genómicas e não-genómicas, que não se restringem apenas ao cérebro, mas também são importantes na neuroproteção ocular (37). Os estrogénios com atividade no sistema nervoso central são considerados neuroesteroides (36,38).

Os estrogénios são importantes em muitas funções cognitivas, incluindo na aprendizagem e na memória, devido em parte à modulação de diferentes neurotransmissores como a acetilcolina (Ach), 5-HT, dopamina e ácido gama-aminobutírico (GABA). A memória é um dos aspetos cognitivos mais importantes influenciado pelos estrogénios (39).

O E2 é um esteroide lipofílico, que se pode difundir através da barreira hematoencefálica (BHE) para o SNC, onde regula vários processos relacionados com o desenvolvimento, reprodução, cognição e emoções (14). Tal como já referido, os estrogénios são produzidos em diversos tecidos, incluindo no SNC. Estudos recentes mostram que os estrogénios são produzidos no hipocampo, cerebelo, hipotálamo, amígdala e córtex por neurónios e astrócitos (35). O E2 pode ser sintetizado localmente no cérebro, tanto de mulheres como de homens, através do metabolismo do colesterol. No cérebro humano adulto, a maior expressão de aromatase é encontrada no tálamo, enquanto os roedores têm maior expressão na amígdala (14).

Os estrogénios exercem os seus efeitos através da ligação a ERs, localizados em várias áreas do cérebro: ER α e o ER β são expressos no hipocampo, hipotálamo, amígdala, tálamo, cerebelo e córtex cerebral, e o GPER encontra-se distribuído no hipocampo, hipotálamo e córtex cerebral (14,35,39). No córtex humano, ER α e ER β estão presentes particularmente no córtex pré-frontal e temporal. Em roedores, estudos indicam a presença de ER α no córtex pré-frontal medial, e de ER α e ER β em áreas sensoriomotoras, sendo maior a densidade de ER β do que a de ER α . No hipocampo, a região cerebral responsável pela aprendizagem e memória, ER β é expresso em níveis elevados na região do *subiculum*, *cornu ammonis* 1-2 (CA1-CA2) e giro denteado CA3 e é o principal regulador do hipocampo em humanos e roedores. Na amígdala e no hipotálamo, o ER α é o recetor predominante e o principal regulador das regiões. O tálamo e o cerebelo expressam tanto ER α como ER β , sendo este último o regulador principal de ambas as regiões (35).

Resumindo, o ER α é expresso predominantemente na amígdala e hipotálamo e, está associado a funções neurológicas e reprodutoras envolvidas na puberdade e características sexuais. Enquanto, o ER β é encontrado principalmente no hipocampo, córtex cerebral, tálamo e cerebelo, desempenhando funções na aprendizagem, memória e ansiedade. ER α e ER β são expressos em áreas importantes para a aprendizagem e memória. Estudos em murganhos *knockout* ER α mostraram défices na reprodução, enquanto, em murganhos *knockout* ER β foi observado um pior desempenho na aprendizagem e memória (35,39).

1.5.3.1. Doença de Alzheimer

A DA é uma doença neurodegenerativa lenta e progressiva e a principal causa de demência. Caracteriza-se por perda de memória e declínio cognitivo (como dificuldades no raciocínio, linguagem e resolução de problemas), bem como na incapacidade de realizar atividades da vida diária (40,41).

A incidência da DA aumenta com a idade. Acima dos 65 anos aproximadamente 5-8% das pessoas são afetadas, número que aumenta para 25-50% para pessoas com idade acima dos 85 anos. A DA afeta homens e mulheres, sendo maior a prevalência em mulheres em cerca de 19-29% (40).

Os estrogénios estão associados à memória e cognição. Como já referido, mulheres na menopausa são mais suscetíveis ao desenvolvimento da DA, devido à diminuição dos níveis de estrogénio (42).

1.5.3.1.1. Etiologia e fisiopatologia da doença de Alzheimer

A DA é considerada uma doença multifatorial associada a diversos fatores de risco: a idade, o principal fator de risco da DA; fatores genéticos, como mutações nos genes da proteína precursora amilóide (APP), presenilina-1 (PSEN-1), presenilina-2 (PSEN-2) e da apolipoproteína E (ApoE), bem como no gene dos recetores de estrogénios (ESR); fatores ambientais, incluindo a poluição do ar, a dieta (rica em ácidos gordos saturados, alto índice calórico, e pobre em nutrientes como vitamina B12 e vitamina D) e infeções no SNC; e doenças, como a doença cardiovascular, a obesidade e a diabetes (41,43).

Existem dois tipos de alterações neuropatológicas na DA: lesões positivas (“acumulação”), caracterizadas pela acumulação de placas senis de péptido beta-amilóide ($A\beta$) e de emaranhados neurofibrilares (NTFs) de proteína tau hiperfosforilada; e lesões negativas (“perda”), caracterizadas por atrofia devido a uma perda neuronal e sináptica. Além disso, outros fatores podem causar neurodegeneração como distúrbios na atividade colinérgica, neuroinflamação e stress oxidativo (41).

As placas senis são depósitos extracelulares de péptido $A\beta$, a acumulação de agregados de péptido $A\beta$ deve-se a um processamento anormal da APP. A APP é uma proteína transmembranar tipo 1 metabolizada por duas vias, a via não amiloidogénica e a via amiloidogénica. Na via não amiloidogénica, a APP é clivada pela enzima α -secretase numa forma solúvel, a APP α . Na via amiloidogénica, a APP é clivada sequencialmente pelas enzimas β -secretase e γ -secretase, originando péptido $A\beta$ de diferentes comprimentos, sendo as formas mais comuns no cérebro a forma $A\beta_{40}$ e a $A\beta_{42}$ (41,44,45). O processamento da APP origina mais $A\beta_{40}$ do que $A\beta_{42}$, sendo esta última forma a mais amiloidogénica devido aos resíduos de alanina e isoleucina no C-terminal que resultam em características hidrofóbicas e, portanto, é mais propensa a agregar e depositar-se em placas (44). A PSEN-1 e a PSEN-2 são proteínas que ativam o complexo γ -secretase, a PSEN-1 desempenha um importante papel na produção de $A\beta$ através da APP. Mutações no gene PSEN-1 aumentam a proporção de $A\beta_{42}$ / $A\beta_{40}$. As mutações no gene PSEN-2 são raras e desempenham um papel menos importante na produção de $A\beta$. Assim, mutações nos genes da APP, PSEN-1 e PSEN-2 afetam a degradação de $A\beta$, que se vai acumular e formar placas $A\beta$. O péptido $A\beta$ tem um papel

importante na neurotoxicidade e na função neuronal, as placas de péptido A β causam danos nos neurónios e nas sinapses, bem como, a hiperfosforilação da proteína tau (41).

Os NTFs são filamentos anormais de proteína tau hiperfosforilada que formam filamentos helicoidais emparelhados (PHF) e se acumulam em axónios e dendrites, causando perdas de microtúbulos e proteínas associadas à tubulina. A proteína tau é encontrada principalmente nos axónios, onde estabiliza os microtúbulos (46). A hiperfosforilação e agregação da proteína tau estão associadas a distúrbios na plasticidade sináptica de longo e de curto prazo (47).

Os distúrbios sinápticos envolvem anomalias no transporte axonal, danos mitocondriais, stress oxidativo, bem como a acumulação de péptido A β e da proteína tau nas regiões sinápticas. Danos sinápticos no neocórtex e no sistema límbico afetam a memória e, geralmente, são observados no estágio inicial da DA (41).

Na DA existe também um défice da neurotransmissão colinérgica devido à diminuição dos níveis de ACh. No cérebro, a ACh está envolvida em vários processos como a memória, atenção, informação sensorial e aprendizagem (41,48). Acredita-se que a perda de neurónios colinérgicos seja afetada por processos de excitotoxicidade, nos quais ocorre a sobreestimulação do neurotransmissor glutamato ou dos recetores de N-metil D-aspartato (NMDA). A excitotoxicidade aumenta os níveis de influxo de Ca^{2+} , o que resulta em morte neuronal e disfunção sináptica (49).

1.5.3.1.2. Terapêuticas atuais e em desenvolvimento para a doença de Alzheimer

Atualmente, existem apenas duas classes de fármacos aprovadas pela FDA (*Food and Drug Administration*) para o tratamento da DA, os inibidores da acetilcolinesterase (ChEI) e os antagonistas dos recetores NMDA. Ambas as classes apenas aliviam os sintomas, não curam ou previnem a doença (40).

Os ChEI atuam através da inibição da hidrólise da ACh pela acetilcolinesterase, o que resulta num aumento de ACh na fenda sináptica. Esta classe de fármacos inclui o donepezilo, a galantamina e a rivastigmina, e são usados para o tratamento da DA leve a moderada. Os ChEIs têm maioritariamente efeitos secundários relacionados com o sistema gastrointestinal como náuseas, vômitos, diarreia, cólicas e perda de apetite, bem como fraqueza muscular (50).

Os antagonistas dos recetores NMDA bloqueiam os recetores NMDA, prevenindo o influxo de Ca^{2+} e, conseqüentemente, a excitotoxicidade e a morte neuronal. A memantina é o único fármaco aprovado nesta classe, e é usada para tratar a DA moderada a grave em monoterapia ou em combinação com um ChEI. A memantina tem como efeitos secundários tonturas, confusão e dores de cabeça (41).

Os estrogénios atuam como agentes neuroprotetores na DA através da inibição da acumulação de $A\beta$, diminuição dos níveis de Ca^{2+} induzidos pelo glutamato, estimulação da proteólise da APP, diminuição dos níveis de peróxido de hidrogénio prevenindo a formação de radicais livres e o stress oxidativo, e inibição da deposição e migração de leucócitos, diminuindo a inflamação no cérebro (42).

Muitas doenças neurológicas e neurodegenerativas, como a DA, que têm sido associadas à privação de estrogénios no SNC podem ser prevenidas através da TRE, principalmente com o E2, o principal estrogénio endógeno (51). Neste contexto, estudos referem que o risco de desenvolver DA diminui nas mulheres sujeitas a TRE (42).

A “hipótese do período crítico” afirma que existe uma janela de oportunidade de tempo para iniciar a TRE. Esta teoria sugere que se a terapia for iniciada logo após a menopausa pode prevenir o declínio cognitivo. Por outro lado, se a terapia for iniciada após um período significativo de tempo após a menopausa, fora da janela de oportunidade, os efeitos benéficos do E2 são significativamente menores. Existem algumas explicações para esta teoria: uma delas sugere que o E2 apenas tem benefícios neurológicos quando aplicado em neurónios saudáveis e, como os neurónios tendem a sofrer degeneração com a idade, os benefícios do tratamento com E2 em mulheres na pós-menopausa diminuem à medida que aumenta o tempo desde o início da menopausa; outra explicação afirma que na ausência de terapia precoce com E2, a privação de longo prazo de E2 (LTED, Long Term E2 Deprivation) resulta na degradação de ERs na região CA1 do hipocampo e conseqüente diminuição da sensibilidade a E2; a ACh é um importante neurotransmissor, abundante nos neurónios da região CA1 do hipocampo e do córtex pré-frontal, o LTED diminui os níveis da enzima colina acetiltransferase (ChAT), necessária na biossíntese de ACh e, conseqüentemente, diminui os níveis de ACh (52,53).

Abordagens terapêuticas futuras, como terapêuticas modificadoras da doença e terapêuticas hormonais, têm como objetivo alterar a progressão da doença, nomeadamente as características patológicas da DA, como $A\beta$ e a proteína tau (41).

1.5.3.2. Depressão

A depressão é uma das doenças mentais mais comum e debilitante. Aproximadamente, 280 milhões de pessoas no mundo têm depressão, a qual é duas vezes mais comum em mulheres do que em homens (29). As mulheres são mais vulneráveis a um humor depressivo durante a perimenopausa do que na pré-menopausa (54)

Os sintomas depressivos incluem tristeza, perda de interesse e prazer em realizar atividades, baixa auto-estima, sentimento de inutilidade, sentimento de culpa, falta de esperança em relação ao futuro, distúrbio no sono e no apetite, cansaço, falta de concentração e, em situações mais graves, pensamentos suicidas. Existem vários tipos de depressão, dependendo do número e gravidade dos sintomas, da duração e do impacto que tem no quotidiano da pessoa (55).

Geralmente, o início da depressão é gradual, mas pode ocorrer também de forma abrupta. Na maioria das pessoas, a depressão manifesta-se através de episódios depressivos agudos, sendo que se sentem bem entre os episódios. No entanto, a duração, o número e o padrão dos episódios é variável e imprevisível (56).

1.5.3.2.1. Etiologia e fisiopatologia da depressão

A depressão está associada a diversos fatores como fatores sociais e culturais, bem como fatores biológicos (56). O meio social e eventos específicos da vida podem desencadear uma depressão. A alteração dos níveis de monoaminas, o aumento da inflamação e a redução da neurogênese e da neuroplasticidade têm sido associados à fisiopatologia da depressão (29).

A hipótese das monoaminas, uma das principais hipóteses para a fisiopatologia da depressão, afirma que a depressão é causada pela alteração dos níveis de uma ou mais monoaminas, como a 5-HT, noradrenalina (NA) e dopamina (29).

Níveis elevados de marcadores inflamatórios como IL-1, IL-2, IL-6 e TNF- α foram encontrados em pessoas diagnosticadas com depressão (57). O stress aumenta a produção de citocinas (como a IL-1, IL-6 e TNF- α), existindo, assim, um feedback positivo entre a depressão e a inflamação, que por sua vez a inflamação causa depressão. As citocinas inflamatórias reduziram os níveis de monoaminas em pacientes diagnosticados com depressão através do aumento do metabolismo do triptofano, que é um precursor da 5-HT (29).

A redução da neurogênese e da neuroplasticidade também está envolvida na fisiopatologia da depressão. O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF, do inglês Brain-derived neurotrophic factor) promove a sobrevivência dos neurónios existentes e estimula o crescimento e diferenciação de novos neurónios e sinapses. A constatação de que os níveis séricos de BDNF se encontram diminuídos em pessoas diagnosticadas com depressão, sugere que o BDNF se encontra implicado na fisiopatologia da depressão (29).

1.5.3.2.2. Terapêuticas atuais e em desenvolvimento para a depressão

A farmacoterapia antidepressiva consiste, essencialmente, no aumento da transmissão sináptica das monoaminas: 5-HT, NA e dopamina (58).

Os inibidores da recaptação de monoaminas reduzem a clearance destas, aumentando a sua duração na fenda sináptica. Estes incluem os antidepressivos tricíclicos, os inibidores seletivos da recaptação de 5-HT (sertralina, citalopram, paroxetina e fluoxetina), os inibidores da recaptação da 5-HT e NA (venlafaxina e duloxetina) e os inibidores de NA e dopamina (bupropiona) (58).

Os antidepressivos tricíclicos inibem a recaptação das monoaminas, mas também interferem com recetores da histamina e acetilcolina. Incluem a imipramina (inibidor da recaptação de 5-HT e NA), a clomipramina (inibidor da recaptação de 5-HT), a amitriptilina (inibidor da recaptação de 5-HT e NA) e a nortriptilina (inibidor da recaptação de NA). Apresentam muitos efeitos secundários, como feitos anti-colinérgicos (midríase, obstipação e retenção urinária), anti-adrenérgicos α_1 (hipotensão ortostática e redução da libido), anti-histamínicos (sonolência, aumento do apetite e do peso) e cardiovasculares (doses baixas: efeitos antiarrítmico, e em doses altas: efeito arrítmico) (59).

Os inibidores seletivos da recaptação de 5-HT inibem seletivamente a recaptação de 5-HT. São a primeira escolha no tratamento da depressão, pois ao serem mais seletivos, não apresentam efeitos associados aos antidepressivos tricíclicos. Alguns compostos similares a estes, inibem a recaptação de 5-HT e NA, mas sem os efeitos secundários dos tricíclicos (55).

Os inibidores da monoamina oxidase (moclobemida) inibem a monoamina oxidase de tipo A, enzima responsável pela degradação da 5-HT, NA e dopamina, aumentando a

disponibilidade destas na fenda sináptica. Efeitos secundários incluem hipotensão ortostática, insónias e disfunção sexual (58). Apresentam interação com alimentos ricos em tiramina (como queijo, vinho tinto, chocolate e café), originando hipertensão (60).

Os antagonistas dos recetores α e 5-HT (mirtazapina e trazodona) aumentam a neurotransmissão noradrenérgica e serotoninérgica (58).

Os estrogénios estão envolvidos na regulação de vários processos neuronais e de neurotransmissão associados à depressão, como na plasticidade sináptica, neuroinflamação, sistema serotoninérgico e no eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (61).

Tal como referido anteriormente, os níveis de estrogénios têm influência nos níveis de 5-HT, baixos níveis de estrogénios originam baixos níveis de 5-HT. Tem sido sugerido que os estrogénios aumentam a síntese de 5-HT, diminuem a degradação de 5-HT e modulam a expressão de recetores serotoninérgicos. Isto pode explicar a razão de mulheres na menopausa apresentarem maior suscetibilidade a sintomas depressivos (62).

Mulheres no pós-parto ou na menopausa têm uma maior vulnerabilidade para a depressão, devido à diminuição dos níveis de estrogénio (61). O estrogénio tem mostrado benefícios em mulheres com depressão pós-parto, na perimenopausa e na menopausa (63).

Um estudo referiu um maior risco de transtornos de humor em mulheres a usar contraceptivos só com progestagénios e um menor risco de transtornos de humor em uso de contraceptivos combinados (progestagénios e estrogénios), quando comparadas a mulheres que não usam contraceptivos (64). A TRE tem sido demonstrado benefícios na prevenção da depressão (64).

1.5.4. Estrogénios e o cancro

O cancro é uma das doenças mais temidas do século XXI. O risco de desenvolver cancro é de cerca de 20,2% (22,4% em homens e 18,2% em mulheres, respetivamente). Os cancros mais frequentes são o cancro do pulmão, o cancro da mama e o cancro da próstata (65).

O cancro é uma doença que pode surgir em qualquer órgão ou tecido do corpo e, são compostos por células que crescem de forma anormal e descontrolada. Normalmente, as células crescem e dividem-se para formar novas células. Quando as células envelhecem ou estão danificadas, são substituídas por novas células. No cancro, este processo encontra-se descontrolado. As células, devido a mutações no seu material genético (DNA), crescem e dividem-se de forma descontrolada, e invadem os tecidos ou órgãos vizinhos (66).

Em alguns tipos de cancro, o seu crescimento está dependente do estímulo por parte de hormonas, e classificam-se como hormono-dependentes. Os mais comuns são os cancros da mama sensíveis a estrogénios e cancros da próstata sensíveis a androgénios (66).

No tratamento do cancro são utilizados diferentes tipos de terapêuticas, que podem ser divididas em terapêutica local (cirurgia e radioterapia) e em terapêutica sistémica (quimioterapia, hormonoterapia, imunoterapia e terapia-alvo) (66).

A cirurgia e a radioterapia são tratamentos locais que pretendem remover ou destruir as células do tumor, numa parte específica do corpo. A terapêutica sistémica é, normalmente, administrada na corrente sanguínea e, tem como objetivo destruir ou desacelerar o crescimento das células cancerígenas, inclusivamente que possam ter metastizado (66).

Relativamente à hormonoterapia, os tumores mais frequentemente tratados com este tipo de terapêutica são os já referidos tumores hormono-sensíveis da mama e da próstata. A hormonoterapia consiste na alteração da quantidade de certas hormonas no organismo, para diminuir a probabilidade destes tumores crescerem e se propagarem (67).

Na hormonoterapia são utilizados fármacos antagonistas dos estrogénios (tamoxifeno e raloxifeno) e inibidores da aromatase, entre outros. Fármacos antagonistas dos estrogénios (tamoxifeno) são usados no tratamento de cancros sensíveis aos estrogénios, como é o caso de grande parte dos casos de cancro da mama. Os inibidores reduzem a síntese de estrogénios e, são também eficazes no tratamento do cancro da mama (67).

Dado o impacto desta doença na sociedade e a clara falta de tratamentos eficazes e seguros, tem sido realizada intensa investigação no desenvolvimento de novas terapias

ao longo dos anos. Uma das áreas em estudo envolve o potencial uso de esteroides quimicamente modificados, um ponto abordado nesta dissertação (68).

1.5.5. Outros potenciais usos dos estrogénios

1.5.5.1. Neurodegeneração ocular (glaucoma)

O glaucoma é a principal causa de cegueira irreversível em todo o mundo, e é caracterizado pela degeneração progressiva do nervo ótico e pode ser considerado um distúrbio neurodegenerativo, tanto do olho quanto do cérebro. A prevalência de glaucoma em pessoas entre os 40 e os 80 anos é cerca de 3.5%. Com o envelhecimento da população, estima-se que 111,8 milhões de pessoas terão glaucoma em 2040 (69,70).

Geralmente, o glaucoma tem uma progressão lenta e, as pessoas permanecem assintomáticas até que a doença já se encontre num estado avançado. Num estado avançado, quando os danos são graves, as pessoas descrevem a visão como enevoadada e difusa ou como escura. Num estado final, o glaucoma pode progredir para a perda total da percepção de luz (69,71).

1.5.5.1.1. Etiologia e fisiopatologia do glaucoma

O glaucoma refere-se a um grupo de neuropatias óticas progressivas caracterizadas pela degeneração das células ganglionares da retina e perda de visão. A retina é uma unidade funcional do SNC que converte um sinal luminoso num impulso nervoso, encontra-se conectada ao cérebro através dos axónios das células ganglionares da retina que compõem o nervo ótico. As células ganglionares da retina transmitem informações visuais ao cérebro. Tal como os neurónios, as células ganglionares da retina também são constituídas por um corpo celular, dendrites e axónios (69–71).

O glaucoma é considerado uma doença multifatorial, a sua patogénese ainda não é totalmente compreendida, mas acredita-se que depende de vários fatores como a pressão intraocular (PIO), fluxo sanguíneo ocular anormal, estrutura anormal da lâmina cribrosa, processos autoimunes, stress oxidativo e disfunção mitocondrial. A PIO é considerada o principal fator, e é determinada pelo equilíbrio entre a produção do humor aquoso e a saída do humor aquoso (69,72).

O aumento da PIO resulta na perda do normal suporte estrutural e metabólico dos axónios das células ganglionares da retina. A diminuição da sinalização neurotrófica para as células ganglionares da retina provavelmente resulta no início da apoptose. A redução da PIO é a única forma comprovada de parar ou retardar a progressão do glaucoma (69).

Embora a PIO elevada seja um fator importante no glaucoma, não é um critério definitivo. O limite superior da PIO normal é de 21 mm Hg, no entanto, uma grande proporção de pessoas com glaucoma tem uma PIO menor que 21 mm Hg, e nem todas as pessoas com uma PIO maior que 21 mm Hg (conhecida como hipertensão ocular) desenvolvem glaucoma (69).

1.5.5.1.2. Terapêuticas atuais e em desenvolvimento para o glaucoma

Como referido, o glaucoma, se não for tratado, evoluirá para deficiência visual e, eventualmente, cegueira. Atualmente, os tratamentos disponíveis não podem reverter os danos visuais causados pelo glaucoma, no entanto, o diagnóstico precoce e o tratamento podem prevenir a progressão da doença. Na maioria dos casos, o glaucoma requer tratamento crónico, ao longo da vida (72).

A redução da PIO é a única forma comprovada de impedir a progressão do glaucoma. Os fármacos que diminuem a PIO incluem derivados das prostaglandinas, bloqueadores dos recetores β , agonistas dos recetores α_2 , agonistas dos recetores colinérgicos e inibidores da anidrase carbónica, sob a forma de colírios. Os derivados das prostaglandinas (latanoprost, bimatoprost e travoprost) e os agonistas dos recetores colinérgicos (pilocarpina e carbachol) reduzem a PIO através do aumento do fluxo de saída de humor aquoso, os bloqueadores dos recetores β (timolol, betaxolol, levobunolol, carteolol e metipranolol) e os agonistas dos recetores α_2 (brimonidina e apraclonidina) atuam através da diminuição da produção de humor aquoso e, os inibidores da anidrase carbónica (brinzolamida e dorzolamida) atuam através da diminuição da produção de humor aquoso e do aumento do fluxo de saída deste (69,72).

O E2 mostrou, em estudos anteriores, ser um importante neuroprotetor ocular. Num ensaio pré-clínico em roedores ovariectomizados (OVX), de modo a mimetizar a fisiopatologia do glaucoma, os roedores foram submetidos a uma injeção de solução hipertónica na veia episcleral com o objetivo de aumentar a PIO. O tratamento com um colírio de E2 teve como resultados uma elevada concentração de E2 na retina e a proteção das células ganglionares da retina, prevenindo a deterioração visual. O

número de células apoptóticas na camada de células ganglionares diminuiu significativamente no grupo tratado com E2 em comparação ao grupo de controlo (tratado com veículo). No grupo de controlo, cerca de 34% das células ganglionares sofreu apoptose, enquanto, no grupo tratado com E2 este número desceu para cerca de 19%. No entanto, o peso húmido do útero no grupo tratado com E2 foi aproximadamente 5 vezes maior do que no grupo de controlo, o que significa que o tratamento com E2 provocou efeitos periféricos. Assim, é necessária uma alternativa segura e eficaz para a entrega seletiva de E2 na retina, sem os efeitos colaterais periféricos associados aos estrogénios (37).

1.5.6. Riscos associados ao uso dos estrogénios clássicos e desenvolvimento de novos compostos estrogénicos

As terapêuticas estrogénicas têm sido associadas a efeitos secundários, como o aumento do risco de cancro da mama e do endométrio, tromboembolismo, doença cardíaca coronária e AVC; nos homens está também associada a feminização (21,73).

As TRES atualmente aprovadas causam níveis elevados de estrogénios circulantes e a possibilidade de efeitos secundários periféricos, não podendo assim ser realizadas com segurança em ambiente clínico para o tratamento de doenças do SNC até que os seus efeitos sejam restritos ao cérebro. Muitas mulheres interrompem ou evitam iniciar estas terapêuticas, mesmo em situações em que os benefícios dos estrogénios foram demonstrados, o que aumenta o risco de desenvolverem problemas neurológicos (73).

Portanto, é necessário o desenvolvimento de terapias estrogénicas seletivas para órgão alvo (ex: o SNC), de modo a não aumentar os níveis de estrogénios na circulação e, deste modo, não se provocarem possíveis efeitos secundários periféricos, podendo assim ser implementadas com segurança terapêutica (74).

O presente trabalho incide sobre compostos quinóis que se pensa funcionarem como pró-fármacos bioprecursores dos estrogénios (principalmente no SNC), nomeadamente o $10\beta,17\beta$ -dihidroiestra-1,4-dien-3-ona (DHED), o $10\beta,17\alpha$ -dihidroiestra-1,4-dien-3-ona (α -DHED) e o 10β -hidroiestra-1,4-dieno-3,17-diona (HEDD), pró-fármacos bioprecursores do E2, α -E2 (17α -estradiol) e E1, respetivamente (74,75).

2. Objetivos

O presente trabalho pretende rever o mecanismo de ação e atividade biológica do DHED, α -DHED e HEDD. Tem como principal objetivo demonstrar que o DHED e o α -DHED são candidatos promissores a terapêuticas estrogénicas seguras para doenças reguladas pelo SNC e responsivas aos estrogénios, através da seletividade para o SNC e da ausência de efeitos colaterais periféricos associados aos estrogénios; e que o HEDD apresenta atividade anticancerígena, sendo uma potencial terapêutica antitumoral.

3. Métodos

Na realização do presente trabalho, procedeu-se à pesquisa bibliográfica nas bases de dados *PubMed*, *Web of Science* e *Cochrane Library* entre julho de 2021 e julho de 2022, através da combinação das seguintes palavras-chave nos títulos ou nos resumos: “ $10\beta,17\beta$ -dihydroxyestra-1,4-dien-3-one”, “ $10\beta,17\alpha$ -dihydroxyestra-1,4-dien-3-one”, “ 10β -hydroxyestra-1,4-dien-3,17-dione”, “central nervous system” e “*para-quinol*”.

Foram incluídos artigos entre os anos 2000 e maio de 2022 e, em inglês. Publicações pagas ou não acessíveis através da ligação VPN da Universidade da Beira Interior foram excluídas. Foram então analisados os títulos e resumos de todos os artigos provenientes da pesquisa bibliográfica e, os artigos relevantes foram lidos na íntegra e permitiram identificar outras publicações pertinentes para o trabalho.

4. Pró-fármacos bioprecursores dos estrogénios com estrutura *para-quinol*

Os pró-fármacos são derivados inativos de fármacos que são convertidos na sua forma biologicamente ativa através de transformações enzimáticas e/ou químicas *in vivo*. São normalmente desenvolvidos para solucionar questões de toxicidade, farmacocinética, farmacodinâmica e distribuição de fármacos. Ao contrário dos pró-fármacos clássicos, os pró-fármacos bioprecursores não possuem um grupo transportador, a própria molécula do fármaco sofre uma biomodificação no organismo (76,77).

O $10\beta,17\beta$ -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona (DHED), o $10\beta,17\alpha$ -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona (α -DHED) e o 10β -hidroxiestra-1,4-dieno-3,17-diona (HEDD) (Figura 2) são considerados pró-fármacos bioprecursores do E2, α -E2 e E1, respetivamente, ocorrendo a ativação principalmente no SNC (75).

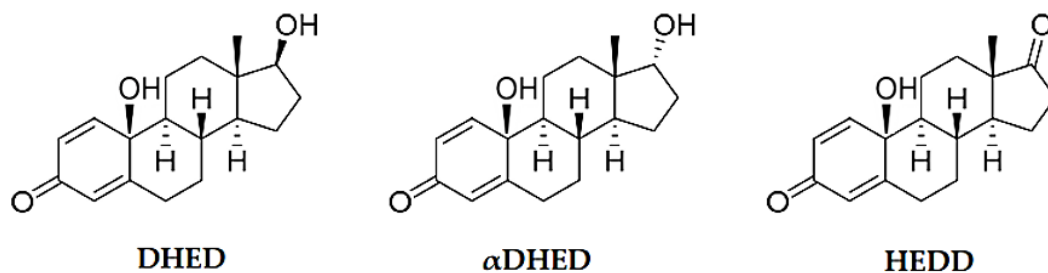


Figura 2: Estrutura química do DHED, αDHED e HEDD, os pró-fármacos bioprecusores do E2, α-E2 e E1, respetivamente. Fonte: Prokai-Tatrai et al (75)

4.1. Mecanismo de ação e a sua bioconversão no sistema nervoso central

Os estrogénios têm na sua estrutura o anel A fenólico que atua como antioxidante ao eliminar radicais livres de forma direta, uma ação não genómica e única entre os neuroesteroides, pois apenas os estrogénios possuem o anel A fenólico (75). Esta capacidade antioxidante é muito importante contra o stress oxidativo, que está associado ao início e progressão da neurodegeneração (78).

Os estrogénios atuam como um “escudo químico” contra espécies reativas de oxigénio, nomeadamente o radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$). O anel A fenólico captura o radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$) e sofre desaromatização oxidativa, dando origem a um *para*-quinol sem afinidade significativa para os ERs. O *para*-quinol é convertido de volta ao estrogénio correspondente através de uma redução catalisada por desidrogenases/reduases e envolvendo a forma reduzida da coenzima nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH), que atua como agente redutor (Figura 3). O estrogénio é então regenerado e pode exercer novamente as suas ações genómicas e não genómicas. Os *para*-quinóis são um intermediário-chave no processo antioxidante através do qual os estrogénios protegem os neurónios dos radicais hidroxilo (75,79). É importante referir que o DHED e o HEDD são compostos naturais que se formam no organismo humano, através do metabolismo oxidativo dependente de NADPH de E2 e E1, respetivamente (80).

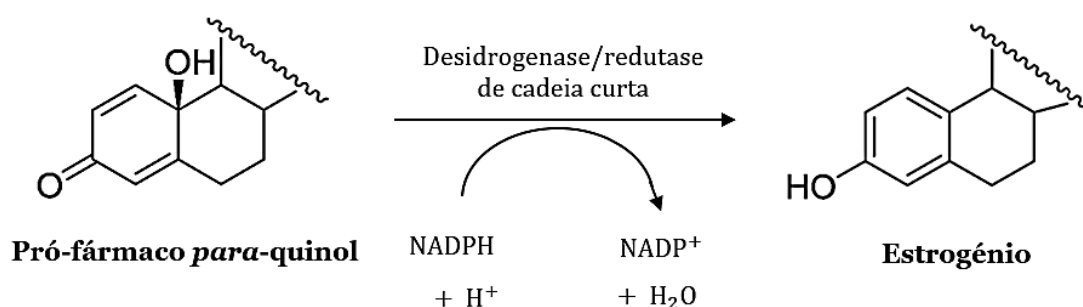


Figura 3: Bioconversão do pró-fármaco *para*-quinol no estrogênio correspondente no sistema nervoso central. Adaptado: Prokai-Tatrai et al (75)

5. O 10 β ,17 β -dihidroiestra-1,4-dien-3-ona

O DHED (Figura 2) é um pró-fármaco derivado da conversão do anel A fenólico do E2 numa estrutura *para*-quinol, cuja redutase expressa seletivamente no SNC permite a conversão seletiva a E2 no SNC e, portanto, potencialmente sem efeitos periféricos (75). O DHED foi desenvolvido com o objetivo de ser seletivo para o SNC e tratar patologias do SNC responsivas aos estrogênios, sem causar níveis elevados de estrogênios circulantes e efeitos colaterais periféricos como cancro da mama e do endométrio, tromboembolismo, doença cardíaca coronária, AVC e feminização (nos homens). Encontra-se em ensaios pré-clínicos, de modo a ser avaliada a sua segurança terapêutica, distribuição no organismo e efeitos terapêuticos (74,75).

O metabolismo redutivo de DHED em E2 ocorre através da transferência de hidretos da coenzima NADPH para a posição C1 da dupla ligação em C1-C2 do anel A de DHED que é conjugado ao grupo carbonilo em C3. Esta adição- β é seguida pela eliminação espontânea de água envolvendo o 10(β)-OH (74).

O DHED é inativo como hormona estrogénica, pois não tem afinidade considerável para os ERs. Em comparação com o E2, o DHED apresenta uma lipofilicidade e ligação às proteínas plasmáticas significativamente menores, enquanto a sua solubilidade aquosa é maior (Tabela 1). Estas características de DHED constituem vantagens sobre E2 em termos de biodisponibilidade e formulação (74).

Tabela 1: Afinidade para os ERs, ligação às proteínas plasmáticas, lipofilicidade (logaritmo do coeficiente de partição n-octanol/água) e solubilidade aquosa de E2 e DHED. Os valores são médias \pm SEM (n=3). Fonte: Prokai et al (74)

Composto	Ligação aos ERs IC ₅₀ (nM)		Ligação às proteínas plasmáticas (%)	Lipofilicidade (logP)	Solubilidade aquosa intrínseca a 25°C (µg/ml)
	ER α	ER β			
E2	1,3	0,7	97,8 \pm 0,3	4,01	4,2 \pm 0,3
DHED	>10,000	>10,000	58,0 \pm 0,6	1,67	60,3 \pm 1,7

É ainda de referir que foram desenvolvidos compostos similares ao DHED, mas contendo o grupo 17 β -OH alquilado, particularmente, o 17 β -butoxi-1,3,5(10)-estratrien-3-ol. Este *para*-quinol foi também estudado como antioxidante e neuroprotetor e foi evidenciado que não tem estrogenicidade relevante (81).

5.1. Patentes do 10 β ,17 β -dihidroiestra-1,4-dien-3-ona

Katalin Prokai-Tatrai e Laszlo Prokai, autores dos trabalhos sobre o DHED, são os inventores das patentes sobre o uso do DHED e de outros *para*-quinóis como pró-fármacos bioprecursores de estrogénios seletivos no SNC, e são cofundadores da AgyPharma LLC, a empresa que licenciou as patentes (75,82).

5.2. Seletividade do 10 β ,17 β -dihidroiestra-1,4-dien-3-ona para o sistema nervoso central

Nos trabalhos sobre DHED, Katalin Prokai-Tatrai e Laszlo Prokai realizaram estudos para demonstrar a seletividade de DHED para o cérebro e a sua conversão em E2, bem como a ausência de E2 circulante, de modo a avaliar se a terapêutica com DHED causava efeitos adversos periféricos (74,75).

Em murganhos fêmeas OVX, a formação de E2 a partir do DHED foi detetada no cérebro, mas não no útero, um tecido periférico sensível aos estrogénios. No cérebro, foi observada uma maior formação de E2 a partir de DHED no córtex cerebral e no hipocampo (74).

Murganhos fêmeas OVX foram sujeitos a administração intravenosa (iv) de DHED (200 µg/kg). O DHED foi rapidamente absorvido e convertido em E2 no cérebro. Os

níveis circulantes do pró-fármaco desapareceram rapidamente, pois este foi convertido a E2 no cérebro, não tendo sido detetados níveis de E2 na circulação (74).

O peso uterino húmido é frequentemente utilizado para avaliar a exposição periférica aos estrogénios. Se existir um aumento do peso uterino húmido após administração de estrogénios, isto significa que existe exposição periférica aos estrogénios (74).

Murganhos fêmeas OVX foram sujeitos a injeção subcutânea (s.c.) com veículo, E2 ou DHED, durante 5 dias consecutivos. O tratamento com E2 resultou num aumento significativo no peso uterino húmido, o que indica que ocorreu exposição periférica. Enquanto, no grupo tratado com DHED existiu um aumento do peso uterino húmido semelhante ao do grupo controlo (administração com veículo), o que significa que o pró-fármaco não teve efeito sobre o útero (74).

A imagem de bioluminescência in vivo foi um dos métodos utilizados para avaliar a exposição periférica de DHED, consiste numa técnica de imagem molecular ótica que tem sido muito utilizada em ensaios pré-clínicos com o objetivo de visualizar processos moleculares e celulares em patologias, monitorizando a expressão génica, proliferação celular e distribuição celular através de genes-repórter baseados na luciferase (75,83). Para esta técnica de bioluminescência foram utilizados murganhos transgênicos repTOP ERE-Luc, nos quais a expressão de luciferase depende da transcrição de ERs (75).

Em murganhos repTOP ERE-Luc, o E2 (20 µg/kg) originou um aumento de bioluminescência em órgãos periféricos, nomeadamente na região hepática, o que indica que ativou os ERs nesta região. O pró-fármaco, numa dose 10 vezes maior que o E2, não originou bioluminescência em órgãos periféricos, pois não ativou os ERs, o que significa que o DHED não foi metabolizado em E2 em tecidos periféricos. No cérebro, o DHED (75 µg/kg) originou bioluminescência, o que significa que o pró-fármaco sofreu bioconversão em E2 no cérebro e ativou os ERs, confirmando, assim, a sua bioconversão seletiva no cérebro (75).

Para confirmar a entrega de DHED no cérebro e a sua conversão em E2, foram testados marcadores clinicamente relevantes de efeitos estrogénicos no cérebro: o recetor de progesterona (PR) na área pré-ótica do hipotálamo; neurónios imunorreativos de colina acetiltransferase (ChAT-IR); e espinhas dendríticas nos neurónios CA1 no hipocampo (74). O PR é altamente sensível ao E2, sendo frequentemente utilizado para avaliar a atividade estrogénica central de compostos em estudo. Os estrogénios têm efeitos significativos na morfologia dos neurónios, nomeadamente no aumento da

densidade da espinha dendrítica CA1 no hipocampo, que se encontram relacionados com plasticidade sináptica e memória. O E2 aumenta o número de neurónios ChAT-IR no proencéfalo (84).

No estudo sobre o efeito do tratamento na expressão de PR, os murganhos OVX foram tratados por via s.c. com E2, DHED ou DHED+ ICI 182.780 (administrado 1 hora antes do DHED). O ICI 182.780 (fulvestrant) é um antagonista estrogénico com elevada afinidade para os ERs, com a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica a partir da circulação. O grupo tratado com DHED e o grupo tratado com E2 apresentaram valores na expressão de PR semelhantes e, superiores ao grupo controlo e ao grupo tratado com DHED+ fulvestrant. O tratamento com DHED + fulvestrant resultou numa expressão de PR semelhante à do grupo controlo, o que indica que o fulvestrant eliminou o efeito do DHED na indução da expressão de PR e, que a resposta ao tratamento com DHED se deveu de facto ao estrogénio formado in situ a partir do DHED na área pré-ótica do hipotálamo (74).

Para avaliar o efeito do DHED sobre os neurónios ChAT-IR e sobre a densidade das espinhas dendríticas CA1 no hipocampo, os murganhos foram tratados subcutaneamente com E2 e DHED. O tratamento com DHED, tal como o tratamento com E2, resultou num aumento de neurónios ChAT-IR e de espinhas dendríticas nos neurónios CA1 em comparação com o grupo controlo (74).

Resumidamente, o DHED não mostrou efeitos estrogénicos sobre órgãos periféricos, nomeadamente sobre o útero, pois o pró-fármaco não sofreu bioconversão em E2. No cérebro, existiu formação de E2 após administração de DHED, o que significa que o pró-fármaco foi metabolizado. O DHED estimulou a expressão do PR na área pré-ótica do hipotálamo, aumentou o número de neurónios ChAT-IR e aumentou o número de espinhas dendríticas nos neurónios CA1 do hipocampo. Assim, o DHED demonstrou ser metabolizado em E2 seletivamente no cérebro e ter efeitos benéficos neste órgão (74).

5.3. Atividade biológica do 10 β ,17 β -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona em ensaios pré-clínicos

O potencial do tratamento com DHED foi avaliado em ensaios pré-clínicos, no contexto da DA, dos afrontamentos e do glaucoma (74).

Atualmente, apenas existem dois trabalhos pré-clínicos focados no DHED na DA, um deles num modelo fêmeas e outro num modelo macho (85,86); dois trabalhos pré-clínicos focados no DHED nos afrontamentos, um deles em fêmeas e outro em machos (30,34); e, igualmente, dois trabalhos pré-clínicos focados no glaucoma, um deles em fêmeas e outro em machos (87,88).

5.3.1. Efeitos do 10 β ,17 β -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona na doença de Alzheimer

Existem dois estudos pré-clínicos sobre o tratamento com DHED na DA, um deles realizado em fêmeas e o outro em machos. O objetivo dos estudos foi determinar se o tratamento com DHED retardaria a progressão das características fisiopatológicas da DA, incluindo a redução da formação de A β e, se não teria exposição a tecidos periféricos, comparativamente com o tratamento com E2 (85).

Para representar a patologia da DA foi utilizado o modelo de murganho duplo transgênico APP^{swe}/PS1^{dE9} (abreviado como DTG), que possui uma dupla mutação, uma mutação no gene sueco da APP e uma mutação no gene PSEN1. Aos 6-7 meses de idade, o modelo DTG começa a desenvolver placas A β e a apresentar défices comportamentais, tornando-o, assim, adequado para estudar a fase precoce da DA (85,89).

- Modelo fêmea

Tschiffely e a sua equipa no ensaio pré-clínico direcionado a estudar o efeito de DHED no género feminino, utilizaram murganhos DTG fêmeas OVX e murganhos DTG fêmeas intactas (grupo controlo). Dos 6 aos 8 meses de idade, os murganhos foram sujeitos a tratamento com DHED, E2 ou veículo, através de minibombas osmóticas Alzet implantadas por via sc. O tratamento teve início aos 6 meses de idade para a terapia ser iniciada precocemente e se obterem melhores resultados cognitivos, de acordo com a hipótese do período crítico. Aos 8 meses de idade, o comportamento de ambos os grupos foi avaliado através do labirinto aquático de braço radial (RAWM, radial-arm water maze), seguido pela avaliação dos níveis de APP e de A β (85).

A DA está associada a défices de memória e aprendizagem, o teste comportamental RAWM foi utilizado para avaliar esses défices em modelos animais que representam a DA, utilizando o número de erros cometidos como medida comportamental. O labirinto aquático era constituído por 6 braços irradiados da área central da piscina, com uma

plataforma colocada no final de cada braço objetivo (específico para cada murganho). Foi considerado um erro quando o murganho entrou no braço incorreto ou quando entrou no braço correto, mas não localizou a plataforma (85).

Todos os murganhos mostraram capacidade de aprendizagem durante os 3 dias de teste, pois cometeram menos erros a cada dia. Os murganhos sujeitos ao tratamento com E2 e DHED cometeram menos erros do que aqueles sujeitos ao tratamento com veículo. A performance dos murganhos DTG fêmeas OVX e intactas tratadas com E2 e DHED foi semelhante entre si (85).

Relativamente ao peso húmido do útero, o tratamento com DHED não foi acompanhado pelo efeito no útero observado com a administração de E2. Os murganhos DTG fêmeas intactas e OVX tratadas com E2 apresentaram um aumento significativo do peso húmido do útero quando comparados aos grupos tratados com veículo e DHED. O efeito do tratamento com DHED sobre o peso húmido do útero foi semelhante ao observado nos grupos tratados com veículo, o que mostra que o tratamento com DHED não tem efeito estrogénico sobre o útero (85).

Tratamentos que reduzam os níveis de APP podem resultar na diminuição da produção de A β e, conseqüentemente, na diminuição de placas A β e numa melhoria cognitiva. No estudo em questão, existiu uma redução da APP em fêmeas intactas tratadas com E2 e DHED em comparação ao tratamento com o veículo. Já nas fêmeas OVX, tanto no tratamento com E2 como com DHED, não houve nenhum efeito sobre os níveis de APP em comparação com as fêmeas OVX tratadas com veículo. A diferente resposta nas fêmeas OVX e nas fêmeas intactas, indica um envolvimento de outros esteroides produzidos nos ovários, como a progesterona (85).

Os níveis de A β (1-40) e A β (1-42) foram também avaliados. No geral, as fêmeas DTG tratadas com E2 e DHED apresentaram níveis significativamente reduzidos de A β (1-40) e A β (1-42), comparativamente aos grupos tratados com veículo. Existiu uma maior diminuição dos níveis de A β nas fêmeas DTG OVX do que nas fêmeas DTG intactas, o que indica que a progesterona (ausente nas fêmeas OVX, mas presente nas fêmeas intactas) atenuou o efeito benéfico do estrogénio sobre a acumulação de A β (85).

A clivagem da APP e, conseqüente, formação de péptido A β envolve enzimas secretases α , β e γ . A diminuição de A β pode não ser um resultado direto da diminuição dos níveis de APP, pois muitas enzimas estão envolvidas na clivagem e no processo de degradação da APP e da A β . O E2 pode atuar ao nível da produção e da degradação de A β , reduzindo a quantidade de A β circulante e /ou a formação de novas placas de A β . A via

de degradação da A β dever ser mais estudada para determinar o mecanismo de atuação do E2 na redução dos níveis de A β no cérebro (85).

No estudo em questão, os níveis de placas A β não diminuíram significativamente após o tratamento com E2 ou DHED. O tratamento com E2 não demonstrou efeito sobre a deposição de A β após a formação de placa já se ter iniciado. Aos 6 meses os murganhos DTG já apresentavam formação de placas A β . O estrogênio reduz os níveis de A β possivelmente através da diminuição dos níveis de péptido A β e da formação de novas placas e, não por afetar placas A β previamente formadas (85).

- Modelo macho

Devido à prevalência da DA no gênero feminino, a maioria dos estudos concentra-se no uso de fêmeas em condição hipoestrogênica pela correlação entre a perda de estrogênios endógenos e o aumento da incidência da neurodegeneração em mulheres. Embora a incidência em homens seja menor do que em mulheres, a DA também ocorre em homens e existem fatores de risco comuns aos dois gêneros (86).

Num outro trabalho, Tschiffely e os seus colaboradores avaliaram os efeitos do DHED em murganhos DTG machos, de modo a avaliar os efeitos centrais do estrogênio no estágio inicial da DA no gênero masculino (86).

Tal como no estudo em murganhos DTG fêmeas, os murganhos DTG machos foram sujeitos a tratamento com E2, DHED ou veículo aos 6 meses de idade, através de minibombas osmóticas Alzet implantadas por via s.c. Murganhos machos da mesma idade, mas sem a patologia de DA (NTG, não transgênicos) foram utilizados como grupos controle na experiência. Cada grupo de tratamento foi constituído por 7 a 9 animais: murganhos DTG machos tratados com E2 (DTG-E2), DHED (DTG-DHED) ou veículo (DTG-VEH); murganhos NTG machos tratados (NTG-E2), DHED (NTG-DHED) ou veículo (NTG-VEH). O teste comportamental RAWM e a medição dos níveis de APP e A β foram iniciados 24 a 48 horas após o fim dos tratamentos (86).

No teste RAWM, no geral, os murganhos DTG machos cometeram mais erros do que os murganhos NTG machos, devido a possuírem a mutação APP^{swe}/PS1^{dE9}. O grupo DTG-DHED cometeu menos erros do que os grupos DTG-VEH e DTG-E2 nos três dias de teste. O grupo DTG-DHED teve um desempenho semelhante aos grupos controle, os murganhos que não apresentam DA. O E2 não demonstrou um efeito significativo na

aprendizagem, pois o desempenho foi idêntico entre os grupos NTG-VEH e NTG-E2 e entre os grupos DTG-VEH e DTG-E2 (86).

Em relação aos níveis de A β (1-40) e A β (1-42), o tratamento com E2 e DHED reduziram os níveis de ambas as isoformas de A β em murganhos DTG machos. Nos níveis de A β (1-40), o grupo de murganhos DTG machos tratados com DHED (DTG-DHED) apresentou níveis significativamente inferiores em comparação ao grupo DTG-VEH e ao grupo DTG-E2, o qual não apresentou uma diminuição significativa de A β (1-40) comparativamente aos murganhos DTG-VEH (86).

No que diz respeito à A β (1-42), a isoforma mais amiloidogénica, nos murganhos NTG machos (sem a patologia da DA) não foi identificada esta isoforma. Os grupos DTG-E2 e DTG-DHED exibiram níveis idênticos de A β (1-42) e, significativamente menores em comparação ao grupo tratado com o veículo, DTG-VEH (86).

Tanto os murganhos fêmeas DTG como os murganhos machos DTG, após tratamento com DHED, apresentaram melhorias na resposta ao teste comportamental RAWN bem como uma diminuição nos níveis de A β , o que mostra o potencial terapêutico de DHED independentemente do género na DA (85,86).

5.3.2. Efeitos do 10 β ,17 β -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona nos afrontamentos

O DHED como fármaco bioprecursor do E2 pode ser uma abordagem viável para a entrega seletiva de E2 no cérebro para o tratamento de afrontamentos (34).

Foram realizados dois estudos pré-clínicos para avaliar o DHED como potencial tratamento no alívio dos afrontamentos, um dos estudos em modelos fêmeas e o outro em modelos machos (30,34).

Os roedores dissipam o calor através da pele da cauda, assim, a medição de mudanças da temperatura da pele da cauda (TST) após ovariectomia (fêmeas) ou após orquiectomia (machos) para mimetizar a condição hipoestrogénica, tem sido útil para caracterizar os afrontamentos e avaliar o potencial de intervenções farmacológicas (30).

O modelo animal para mimetizar os afrontamentos foram roedores OVX ou orquidectomizados (ORDX) dependentes de morfina. Durante a retirada da morfina,

após o tratamento com naloxona (antagonista da morfina), os roedores apresentam sintomas semelhantes entre a abstinência do opióide e os afrontamentos, como o aumento da TST. O tratamento com estrogénios reduz o aumento da TST (90).

- Modelo Fêmea

Merchenthaler e os seus colaboradores estudaram os efeitos do tratamento com DHED na TST de roedores OVX dependentes de morfina, como modelo pré-clínico para os afrontamentos em fêmeas (34).

Numa das experiências, os roedores OVX dependentes de morfina foram submetidos à administração s.c. de DHED (20µg/kg), EE (200µg/kg), E2 (200µg/kg) ou veículo durante 10 dias. A dose de DHED foi estabelecida com base em resultados anteriores que demonstraram que a dose s.c. do pró-fármaco necessária para provocar o mesmo efeito neuroprotetor é cerca de 10 vezes menor que a do estrogénio original, E2. No 6º dia de tratamento, foi implantado s.c. um comprimido de morfina e, no 8º dia de tratamento foram implantados s.c. dois comprimidos de morfina. As temperaturas basais foram medidas durante 5 a 10 minutos, a naloxona (1mg/kg) foi administrada subcutaneamente para bloquear o efeito da morfina, e a TST foi medida durante 30 a 40 minutos após a administração de naloxona (34).

A TST começou a subir 5 minutos após a injeção de naloxona e atingiu o seu valor máximo entre os 10 a 15 minutos, após o qual a TST começou a diminuir e retornou à linha de base em 60 minutos. Nos roedores tratados com veículo (controlo) a TST aumentou 5°C, enquanto, nos roedores tratados com DHED, E2 e EE esse aumento foi menor, cerca de 2°C. Os três compostos (DHED, E2 e EE) atenuam de forma semelhante o aumento da TST induzida pela injeção de naloxona e retirada da morfina, sendo importante realçar que a dose de DHED era 10 vezes menor que a de E2 e EE (34).

Num estudo dose-resposta, foram utilizadas três doses diferentes do pró-fármaco. Os roedores OVX dependentes de morfina foram tratados com DHED (10, 30 ou 100 µg/kg), EE (200µg/kg, controlo positivo) ou veículo (controlo negativo), via oral, 2 vezes por dia durante 10 dias. (34) Tanto o DHED como o EE atenuaram o aumento da TST em comparação com o grupo tratado com o veículo. Dos três tratamentos com DHED (10 µg/kg, 30 µg/kg e 100 µg/kg), o tratamento com DHED na dose de 10 µg/kg foi o que menos atenuou o aumento da TST. Os tratamentos com DHED na dose de 30

$\mu\text{g}/\text{kg}$ e $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ tiveram um efeito na TST idêntico ao tratamento com EE ($200 \mu\text{g}/\text{kg}$) (34).

O efeito do tratamento com DHED foi avaliado em tecidos periféricos sensíveis ao estrogênio como o útero e células da mama cancerígenas, recolhidos dos roedores OVX dependentes de morfina dos estudos anteriores. Ao contrário do EE, o pró-fármaco não estimulou o crescimento das células epiteliais do endométrio nem o aumento do peso húmido do útero. O grupo sujeito ao tratamento com DHED e o grupo tratado com veículo tiveram resultados semelhantes nas células epiteliais do endométrio e no peso húmido do útero, demonstrando assim que o pró-fármaco não tem efeito significativo sobre o útero. O DHED também não estimulou a proliferação das células da mama cancerígenas MCF-7Ca em comparação com o veículo (34).

O tratamento com DHED superou o efeito do tratamento com E2 ou EE, pois o DHED ($20\mu\text{g}/\text{kg}$) teve o mesmo efeito sobre a TST que uma dose 10 vezes maior de E2 e de EE ($200\mu\text{g}/\text{kg}$). O DHED apresenta propriedades físico-químicas favoráveis em comparação ao E2 e ao EE, como uma maior solubilidade em água, menor lipofilicidade e menor ligação às proteínas plasmáticas, o que facilita a sua entrega no SNC. O DHED não mostrou ter efeito sobre as células epiteliais do endométrio, o peso húmido do útero e as células da mama cancerígenas MCF-7Ca, tornando-o assim uma potencial terapia estrogénica sem os efeitos secundários periféricos característicos dos estrogénios (34).

- Modelo macho

Os afrontamentos são um sintoma típico da menopausa devido à diminuição de estrogênio na mulher, mas estes também afetam os homens: sujeitos a castração química ou cirúrgica para tratar o cancro da próstata sensível a androgénios ou o cancro dos testículos; na andropausa natural relacionada com a idade; ou com cancro da próstata ou da mama tratados com inibidores da aromatase (30).

Nos homens, a deficiência de estrogênio é consequência da privação de androgénios, pois os estrogénios são produzidos a partir de androgénios. O E2 é sintetizado a partir da testosterona através da enzima aromatase (30).

O cérebro de ambos os géneros expressa a aromatase. O E2 é também formado de novo no cérebro, que juntamente com o E2 formado a partir da aromatização periférica da

testosterona, desempenha um papel fundamental na manutenção do normal funcionamento do cérebro (30).

Assim, é importante estudar a eficácia do tratamento com DHED no género masculino. Para tal, Merchenthaler e a sua equipa utilizaram roedores machos dependentes de morfina e ORDX (30).

Roedores ORDX foram tratados com uma dose única oral de DHED (100 µg/kg), com a finalidade de avaliar as concentrações de E2 no hipotálamo após a administração de DHED. A concentração de E2 aumentou no hipotálamo após a administração de DHED, atingindo a concentração máxima 30 a 60 minutos após o tratamento com o pró-fármaco. A concentração de E2, 2 horas após a administração de DHED começou a diminuir e, após 8 horas já não era quantificável. Em amostras de soro, recolhidas após a eutanásia dos roedores, não foi detetado nenhum aumento das concentrações de E2. Estes resultados confirmam que a administração de DHED em roedores ORDX leva à formação de E2 no SNC, mas não na circulação, tal como nos roedores OVX (30).

A fim de avaliar os efeitos do tratamento com DHED nos afrontamentos foram utilizados roedores machos ORDX dependentes de morfina nos quais foi administrado por via oral e duas vezes por dia DHED (300 µg/kg), EE (1 mg/kg, controlo positivo) ou veículo (controlo negativo). O restante esquema da experiência foi idêntico ao realizado em fêmeas (30).

A TST começou a subir após 5 minutos da injeção de naloxona e, 15 minutos após atingiu o seu valor máximo, um aumento de aproximadamente 5°C no grupo controlo. Em comparação com o grupo controlo, o tratamento com EE numa dose alta (1 mg/kg) reduziu em aproximadamente 50% o aumento da TST, enquanto, o tratamento com DHED numa dose mais baixa (300 µg/kg) diminuiu cerca de 25% o aumento da TST (30).

Relativamente ao PR na área pré-ótica do hipotálamo, a administração de DHED oral durante 13 dias aumentou a expressão do PR no hipotálamo em comparação ao grupo tratado com veículo, devido à conversão de DHED em E2 nesta região do cérebro. A administração oral de EE também aumentou a expressão do PR no hipotálamo. Assim, a conversão de DHED em E2 no SNC foi confirmado pela expressão de PR no hipotálamo (30).

Tanto em murganhos fêmeas como machos, o DHED aliviou o aumento da TST devido à formação de E2 a partir de DHED no hipotálamo e, não causou estimulação em

tecidos periféricos. Assim sendo, o DHED é um candidato promissor a uma terapia estrogénica segura e seletiva para o cérebro de mulheres e homens que sofrem de afrontamentos (30,34).

5.3.3. Efeitos do 10 β ,17 β -dihidroiestra-1,4-dien-3-ona no glaucoma

- Modelo fêmea

Prokai-Tatrai e os seus colaboradores avaliaram a permeabilidade transcorneal de DHED sobre a forma colírio, a concentração de E2 na retina e na circulação após a administração de DHED e, a exposição periférica através do peso húmido do útero (87).

A córnea é formada por um epitélio e endotélio ricos em lípidos e por um estroma pobre em lípidos, sendo necessário um equilíbrio lipofílico-hidrofílico nos compostos aplicados topicamente pela via transcorneal, a principal via de absorção de fármacos com pequeno/médio tamanho (<500 Da) e lipoficidade intermédia (87).

Os colírios de E2 e DHED foram preparados em solução salina com 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD). As ciclodextrinas são oligossacarídeos cíclicos solúveis em água, constituídas por grupos hidrofóbicos na parte interna e por grupos hidrofílicos na superfície externa, que lhe conferem solubilidade aquosa. As ciclodextrinas permitem a formulação aquosa de compostos pouco solúveis em água como o E2, aumentam a permeabilidade da córnea para diminuir a absorção sistémica do composto, aumentam a estabilidade e diminuem a irritação local (87,91).

Prokai-Tatrai e os seus colaboradores estudaram a permeabilidade transcorneal do DHED e o potencial permeabilizador do HP β CD. De forma a detetar a formação de E2 a partir de DHED, durante o transporte através da córnea, foi necessário usar o E2 marcado com um isótopo estável em vez do E2, o d3-E2. Quando o DHED e o E2 foram preparados em solução salina, o fluxo transcorneal do pró-fármaco foi 10 vezes maior que o de E2. Quando o veículo foi o HP β CD em solução salina, a permeabilidade tanto de E2 como de DHED aumentaram, o que confirma que o HP β CD aumenta a solubilidade e a biodisponibilidade ocular destes compostos. O aumento da permeabilidade foi maior no E2 (5 a 10 vezes) do que no DHED (2 a 3 vezes), pois a ciclodextrina teve um maior efeito no E2 devido a este ser altamente lipofílico em comparação ao seu pró-fármaco. Com o HP β CD como veículo, as diferenças no fluxo transcorneal entre o DHED e o E2 diminuíram (87).

Tal como referido anteriormente, a lipofilicidade de DHED ($\log P=1,67$) é muito menor que a de E2 ($\log P=4,01$), que é altamente lipofílico (Tabela 1). A lipofilicidade de DHED permite uma excelente permeabilidade corneana em relação ao E2 (74,87).

A concentração de E2 na retina e na circulação após a administração de colírio de DHED (com HP β CD em solução salina como veículo) foi analisada. Uma concentração significativa de E2 foi detetada na retina, resultante da conversão de DHED, mas não na circulação, onde o pró-fármaco permaneceu inerte. O pico máximo da concentração na retina de E2 ($13\pm 5\text{ng/g}$) e de DHED ($8,4\pm 4\text{ng/g}$) foi detetado cerca de 30 minutos após a administração do colírio. Aproximadamente após 1 hora, o pró-fármaco não era detetado na retina e no sangue, o que indica que não existe acumulação de DHED (87).

A concentração de E2 na retina após a administração de DHED sobre a forma de colírio foi também avaliada em coelhos fêmeas, devido aos olhos destes serem mais idênticos em termos de tamanho e anatomia aos olhos humanos. Foi utilizado d₃-DHED e monitorizada a formação de d₃-E2 no sangue e na retina. As coelhas receberam uma única administração de colírio de d₃-DHED. Aproximadamente após 1 hora do tratamento, foi atingida a concentração máxima de d₃-E2 na retina ($18 \pm 7 \text{ ng/g}$), enquanto, a concentração máxima do pró-fármaco no sangue ($8 \pm 2 \text{ ng/mL}$) foi detetado 30 minutos após o tratamento. Após 24 horas do tratamento, $120 \pm 28 \text{ pg/g}$ de d₃-E2 estava presente na retina, mas ausente no sangue (87).

A exposição periférica de DHED sob a forma de colírio foi avaliada através do peso húmido do útero e do peso húmido da hipófise. Para tal, os roedores OVX foram tratados com colírio de DHED ou E2 (com HP β C em solução salina como veículo), ou com veículo (HP β CD em solução salina), 1 vez ao dia, durante 3 semanas. Os grupos tratados com veículo e com o DHED tiveram pesos húmidos idênticos tanto do útero como da hipófise, ao contrário do grupo tratado com E2, no qual o peso húmido do útero e da hipófise foi superior. Isto significa que o tratamento com DHED não teve efeito estrogénico sobre o útero e sobre a hipófise, o que é concordante com ausência de E2 circulante observado anteriormente (87).

- Modelo macho

Num outro trabalho, Prokai-Tatrai et al estudaram a entrega de E2 na retina através do colírio de DHED em roedores e coelhos machos, de forma semelhante ao realizado em fêmeas (88).

Com o objetivo de avaliar e comparar a entrega de E2 na retina e no sangue após o tratamento com colírio de E2 e de DHED, roedores ORX foram tratados com E2 ou DHED, 1 vez ao dia durante 3 semanas, ou uma administração única de DHED, ou veículo (grupo de controlo) (88).

O tratamento com DHED durante 3 semanas resultou em 482 ± 77 pg/g de E2 na retina e, o tratamento com E2 durante 3 semanas em 569 ± 169 pg/g de E2 na retina (Tabela 2). No entanto, o tratamento com E2 aumentou o nível de estrogénios circulantes (414 ± 79 pg/mL), o que não se verificou com o tratamento com o pró-fármaco, no qual o nível de E2 no sangue ($4,5 \pm 2,1$ pg/mL) não foi significativamente diferente do grupo de controlo ($3,3 \pm 1,5$ pg/mL), o que significa que o pró-fármaco permaneceu inerte na circulação, sendo apenas metabolizado em E2 na retina. Entre o esquema de 3 semanas de tratamento com o colírio de DHED e a administração de uma dose única de DHED, não existiu uma diferença estatisticamente significativa do nível de E2 na retina, o que indica que não existiu acumulação de E2 proveniente de DHED na retina ao longo das 3 semanas de tratamento (88).

Tabela 2: Níveis de E2 na retina e no soro, após tratamento com colírio contendo apenas veículo, DHED ou de E2 (1vez por dia, durante 3 semanas), ou colírio de DHED em dose única. Os tecidos foram recolhidos 24 horas após o tratamento (n=10 para o soro e n=5 para a retina). Fonte: Prokai-Tatrai et al (88)

Tratamento (colírio)	E2 na retina (pg/g)	E2 no soro (pg/mL)
Veículo	130 ± 41	$3,3 \pm 1,5$
DHED, 3 semanas	482 ± 77	$4,5 \pm 2,1$
DHED, dose única	397 ± 105	$4,2 \pm 1,8$
E2, 3 semanas	569 ± 169	414 ± 79

O efeito do tratamento com E2 e DHED foi analisado na hipófise anterior e na vesícula seminal, com a finalidade de avaliar a exposição periférica. Os roedores machos ORX foram tratados com colírio de E2, DHED ou veículo, 1 vez ao dia durante 3 semanas. O grupo de controlo e o grupo tratado com DHED apresentaram pesos de vesícula seminal e de hipófise anterior semelhantes, enquanto, o grupo tratado com E2 apresentou pesos significativamente superiores. O tratamento com o E2 aumentou em 40% o peso da hipófise anterior ($11,6 \pm 1,3$ mg) em relação ao grupo controlo ($7,7 \pm 0,5$ mg) e ao grupo tratado com o pró-fármaco ($8,3 \pm 1,1$ mg). Relativamente ao peso da vesícula seminal, este praticamente duplicou ($59,0 \pm 6,8$ mg) no grupo tratado com o E2 comparado ao grupo controlo ($25,2 \pm 3,2$ mg) ou ao grupo tratado com o DHED ($25,8 \pm 2,9$ mg) (88).

Estes dois marcadores de exposição periférica ao estrogénio e o aumento de E2 na circulação após tratamento com o colírio de E2, confirmaram os efeitos colaterais

associados ao tratamento com E2 em animais fêmeas e machos. Por outro lado, o tratamento com colírio de DHED não originou exposição periférica, pois não teve efeitos estrogénicos sobre o útero, a vesícula seminal e a hipófise anterior e, manteve-se inerte na circulação (88).

Resumindo, o DHED apresenta uma permeabilidade transcorneal adequada, produziu um nível significativo de E2 na retina e permaneceu inerte na circulação e, não apresentou efeito secundários estrogénicos. O DHED é promissor para ser formulado sobre a forma de colírio, de modo a entregar de forma segura e eficaz o E2 no olho, não provocando efeitos hormonais secundários (87,88).

6. O 10 β ,17 α -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona

O α E2, o epímero C17 do E2, apresenta uma forte atividade neuroprotetora, como demonstrado pela redução da mortalidade em modelos roedores de oclusão arterial cerebral, diminuição de APP em roedores transgénicos com DA, indução da densidade das sinapses na espinha piramidal CA1 em roedores OVX, bem como pela indução de efeitos de curta latência na memória espacial de roedores, possivelmente através de efeitos na plasticidade sináptica do hipocampo (92,93). No entanto, o α E2 apresenta efeitos significativos no útero de roedores OVX, sendo necessário restringir a sua ação ao SNC (94).

Neste contexto, o α -DHED é um pró-fármaco do α E2 com seletividade para o SNC. Comparativamente ao α E2, o α -DHED possui uma lipofilicidade significativamente menor (clogP 1,7 versus 4,0), o que é vantajoso para o pró-fármaco em termos de captação cerebral. O α -DHED, tal como o DHED, possui uma excelente biodisponibilidade oral (94).

Contrariamente ao α E2, o α -DHED não tem afinidade significativa para os recetores nucleares de estrogénios (ER α e ER β), sendo inativo como estrogénio (Tabela 3). A baixa afinidade do α -DHED para os ERs deve-se ao facto do pró-fármaco não possuir o anel A fenólico na sua estrutura, que é uma parte essencial do farmacóforo na ligação aos ERs (94).

Tabela 3: Afinidade do α -DHED, α E2 e E2 para os ERs (ER α e ER β). Fonte: Prokai-Tratai et al (94)

Composto	IC ₅₀ (nM)	
	ER α	ER β
α -DHED	>1000	>1000
α E2	2,56	16,2
E2	0,33	0,41

6.1. Potencial atividade antidepressiva do 10 β ,17 α -dihidroxiestra-1,4-dien-3-ona

Prokai-Tatrai et al avaliaram a capacidade do α -DHED produzir α E2 no cérebro e desencadear uma resposta de tipo antidepressivo, através do teste de natação forçada ou de Porsolt. Foram medidas as concentrações de estrogénios em tecidos alvo e avaliada a exposição periférica aos estrogénios através do peso húmido do útero (94).

O teste de natação de Porsolt é um teste comportamental realizado em roedores, desenvolvido para avaliar a eficácia de potenciais fármacos antidepressivos, onde o tempo de imobilidade está associado a um estado depressivo. Quanto menor o tempo de imobilidade, maior a resposta antidepressiva associada (95).

Murganhos CD1 OVX foram sujeitos a administração s.c. de α E2 (30, 100 e 300 μ g/kg), α -DHED (30, 100 e 300 μ g/kg) ou veículo (grupo controlo), 1 vez por dia, durante 5 dias consecutivos. Na dose de 300 μ g/kg, foi coadministrado o fulvestrant para confirmar que os ERs, ou pelo menos um deles, é responsável pelos efeitos antidepressivos e no útero. O teste de natação de Porsolt foi realizado 30 minutos após a última administração (94).

No teste de natação de Porsolt, uma diminuição do tempo de imobilidade dependente da dose foi observada tanto no tratamento com α E2, como com α -DHED. No entanto, o tratamento com α -DHED em doses \geq 30 μ g/kg resultou numa redução significativa dos tempos de imobilidade em comparação com o grupo controlo, e no tratamento com α E2 apenas foram obtidas diferenças estatisticamente consideráveis com doses \geq 100 μ g/kg. Estes resultados apoiam a noção de “economia de fármacos”, devido à entrega direcionada do fármaco ao SNC através do pró-fármaco (94).

Os grupos tratados com fulvestrant coadministrado com α E2 ou α -DHED apresentaram tempos de imobilidade semelhantes aos respetivos grupos controlo. Isto significa que o fulvestrant reverteu o efeito antidepressivo desencadeado por α E2 e α -DHED e, assim, confirmou que a resposta antidepressiva observada era resultante do tratamento com α E2 e α -DHED (94).

O tratamento com α -DHED não provocou um aumento do peso húmido do útero dos murganhos. Mesmo quando administrada uma dose elevada do pró-fármaco (300 μ g/kg), o peso húmido do útero foi 19 ± 3 mg, enquanto, no grupo controlo foi 17 ± 4 mg. Por outro lado, mesmo na dose mais baixa (30 μ g/kg), o α E2 originou um aumento significativo do peso húmido do útero (46 ± 8 mg) (94).

As concentrações de E2 e α E2 foram medidas no sangue, no córtex cerebral e no útero de murganhos CD1 OVX, após administração s.c de α E2 (300 μ g/kg) e α -DHED (300 μ g/kg) durante 5 dias consecutivos (94).

A concentração de α E2 no sangue foi significativa após o tratamento com α E2 ($5,4 \pm 0,2$ ng/mL); pelo contrário, o tratamento com α -DHED, não originou níveis consideráveis do composto original na circulação ($< 0,01$ ng/mL) (94).

No córtex cerebral, a concentração de α E2 foi consideravelmente maior no grupo tratado com o pró-fármaco ($8,9 \pm 1,7$ ng/g) do que no grupo tratado com o α E2 ($1,8 \pm 0,7$ ng/g). No grupo tratado com α E2, tal como no grupo tratado com α -DHED, as concentrações de E2 no córtex não foram significativamente diferentes do grupo controlo, o que significa que a resposta antidepressiva observada no teste de natação de Porsolt se deveu ao α E2 no SNC e não na sua conversão em E2 (94).

No útero, o tratamento com α E2 originou uma concentração considerada elevada de α E2 ($9,8 \pm 0,8$ ng/g), enquanto que após o tratamento com o pró-fármaco não foi detetado α E2. Estes resultados são concordantes com o estudo do peso húmido do útero, no qual o α E2 revelou exposição periférica aos estrogénios com o aumento do peso húmido do útero, o que não foi observado com o pró-fármaco (94).

7. O 10 β -hidroxiestra-1,4-dieno-3,17-diona

O HEDD é um composto natural formado no corpo humano e, é considerado um pró-fármaco da E1, com uma estrutura *para*-quinol (96).

Através de estudos *in silico*, Canário e a sua equipa estudaram as propriedades moleculares, farmacocinéticas e toxicidade do HEDD. O HEDD apresentou um logP de

2,59 e um peso molecular de 286,37. O pró-fármaco da E1 deverá ter uma elevada permeabilidade para as células cancerígenas do cólon (Caco-2), elevada absorção intestinal, baixa probabilidade de penetrar o SNC, não deverá ser é substrato nem inibidor da glicoproteína P e deverá ser substrato da CYP3A4. A nível de toxicidade, deverá possuir uma dose máxima tolerada baixa e não possuir hepatotoxicidade (96).

7.1. Potencial atividade anticancerígena do 10 β -hidroxiestra-1,4-dieno-3,17-diona

O HEDD tem demonstrado atividade anti-proliferativa (97). Deste modo, Canário e colaboradores analisaram os efeitos citotóxicos in vitro do HEDD em cinco linhas celulares cancerígenas: mama (MCF-7 e T47-D), próstata (LNCaP), hepática (HepaRG) e cólon (Caco-2); bem como, em fibroblastos dérmicos humanos não-tumorais (NHDF) (96).

Num estudo inicial, as linhas celulares foram tratadas com E1 ou HEDD a 30 μ M durante 72 horas e, as células não tratadas foram utilizadas como controlo negativo. O HEDD a 30 μ M demonstrou uma elevada citotoxicidade nas seis linhas celulares, relativamente à estrona e ao grupo controlo (96).

Todas as linhas celulares foram tratadas com E1, HEDD ou 5-fluorouracilo (5-FU) (controlo positivo) durante 72 horas. O HEDD teve um efeito anti-proliferativo significativo (valores de IC₅₀ entre 4,11 e 18,64 mM) em comparação ao composto original, a E1 (valores entre 29,53 e 61,82 mM) (Tabela 4). Foi observado que o HEDD possui maior citotoxicidade contra células cancerígenas hormono-dependentes (MCF-7, T47-D e LNCaP), sendo as células HepaRG, Caco-2 e NHDF menos afetadas (96).

Tabela 4: Valores de IC₅₀ estimados para o HEDD nas linhas de células cancerígenas (MCF-7, T47-D, LNCaP, HepaRG e Caco-2) e nas células normais NHDF. ND- não detetado. Adaptado: Canário et al (96)

	MCF-7 IC₅₀	T47-D IC₅₀	LNCaP IC₅₀	HepaRG IC₅₀	Caco-2 IC₅₀	NHDF IC₅₀
E1	41,93	ND	ND	29,53	42,69	61,82
HEDD	5,79	7,72	4,11	10,68	18,64	12,57
5-FU	1,71	0,54	7,79	1,78	1,31	3,61

O estudo da atividade citotóxica de HEDD em células hepáticas é importante, pois particularmente no fígado a E1 pode ser convertida em HEDD por CYPs, como a CYP1A1, a CYP2B6 e a CYP2E1. Foi realizado um ensaio de citometria de fluxo de modo

a avaliar a viabilidade de células HepaRG após 24 horas de tratamento com 50 μ M de HEDD. A percentagem de células cancerígenas HepaRG foi muito menor no grupo sujeito ao tratamento com HEDD, em comparação ao tratamento com 5-FU (controlo positivo) e células sem tratamento (controlo negativo) (96).

Num ensaio de E-screening, células T47-D foram tratadas com HEDD em diferentes concentrações (0,001 μ M, 0,01 μ M e 0,1 μ M) durante 8 dias e, a proliferação celular analisada. Nas concentrações de 0,001 μ M e 0,01 μ M, o HEDD não exibiu ação proliferativa, podendo-se considerar que em baixas concentrações o HEDD tem efeitos estrogénicos reduzidos ou nulos (96).

8. Conclusões e perspetivas futuras

O presente trabalho pretendeu rever os estudos pré-clínicos acerca do DHED, α -DHED e HEDD, nomeadamente no que diz respeito à sua atividade biológica, propriedades farmacocinéticas e toxicidade.

O DHED na DA, em murganhos fêmeas e machos, resultou num melhor desempenho no teste comportamental RAWN e na redução dos níveis de A β . Nos afrontamentos, tanto em murganhos fêmeas como machos, o tratamento com DHED originou E2 no hipotálamo e atenuou o aumento da TST. No contexto do glaucoma, tanto no género feminino como masculino, os estudos concluíram que o colírio de DHED é metabolizado em E2 na retina e, que permanece inerte na circulação, não tendo efeitos estrogénicos periféricos. Assim, o DHED apresentou efeitos terapêuticos potenciais nestas patologias e, de forma independente do género. Um dos maiores problemas das terapêuticas estrogénicas são os efeitos secundários periféricos associados. Em modelos animais, o DHED permaneceu inerte na circulação e, não teve efeitos estrogénicos sobre tecidos periféricos sensíveis aos estrogénicos, como o útero, a hipófise anterior e a vesícula seminal.

Em relação ao α -DHED, este converteu-se em α E2 no SNC de murganhos CD1 OVX e, reduziu os tempos de imobilidade no teste de natação de Porsolt, demonstrando, assim, atividade antidepressiva. A atividade antidepressiva não foi acompanhada pelo aumento do peso húmido do útero, um efeito colateral periférico associado aos estrogénios. Os efeitos antidepressivos do α -DHED apoiam o conceito de “economia de fármacos”, pois o α E2 é entregue de forma direcionada no SNC através do pró-fármaco.

Assim, o DHED e o α -DHED mostraram ser pró-fármacos do E2 e α E2, respetivamente, seletivos para o SNC e seguros, sem os efeitos secundários periféricos associados aos estrogénios. São candidatos promissores a terapêuticas estrogénicas seguras e eficazes nas doenças reguladas centralmente acima referidas.

O HEDD, o pró-fármaco da E1, demonstrou efeitos anti-proliferativos nas seis linhas celulares em estudo (MCF-7, T47-D, LNCaP, HepaRG, Caco-2 e NHDF), principalmente contra as células cancerígenas hormono-dependentes (MCF-7, T47-D e LNCaP). O HEDD diminuiu significativamente a viabilidade de células cancerígenas HepaRG e, em baixas concentrações (0.001 μ M e 0.01 μ M) não promoveu a proliferação de células cancerígenas T47-D.

Futuramente, mais estudos pré-clínicos são necessários de modo a comprovar a segurança terapêutica e efeitos terapêuticos destes pró-fármacos, para serem realizados ensaios clínicos, em humanos.

9. Referências bibliográficas

1. Fuentes N, Silveyra P, States U, Hill C. Estrogen receptor signaling mechanisms. *Adv Protein Chem Struct Biol.* 2019;116:135–170.
2. Siddiqui AN, Siddiqui N, Khan RA, Kalam A, Jabir NR, Kamal MA, et al. Neuroprotective Role of Steroidal Sex Hormones : An Overview. *CNS Neurosci Ther.* 2016;22:342–350.
3. Lemke T, Williams D. Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 7th Edition. 2012. 1520 p.
4. Miller WL, Auchus RJ. The Molecular Biology , Biochemistry , and Physiology of Human Steroidogenesis and Its Disorders. *Endocr Rev.* 2011;32:81–151.
5. Samavat H, Kurzer MS. Estrogen metabolism and breast cancer. *Cancer Lett.* 2015;356:231–243.
6. Miller WL. Steroidogenesis: Unanswered Questions. *Trends Endocrinol Metab.* 2017;28:771–793.
7. Barakat R, Oakley O, Kim H, Jin J, Ko CJ. Extra-gonadal sites of estrogen biosynthesis and function. *BMB Rep.* 2016;49:488–496.
8. Holinka CF, Diczfalusy E, Coelingh Bennink HJT. Estetrol: A unique steroid in human pregnancy. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008;110:138–143.

9. Garbacz WG, Jiang M, Xie W. Sex-dependent role of estrogen sulfotransferase and steroid sulfatase in metabolic homeostasis. *Adv Exp Med Biol.* 2017;1043:455–469.
10. Prossnitz ER, Arterburn JB. International union of basic and clinical pharmacology. XCVII. G protein–coupled estrogen receptor and its pharmacologic modulators. *Pharmacol Rev.* 2015;67:505–540.
11. Le Dily F, Beato M. Signaling by steroid hormones in the 3D nuclear space. *Int J Mol Sci.* 2018;19:1–16.
12. Paterni I, Granchi C, Katzenellenbogen J, Minutolo F. Estrogen Receptors Alpha and Beta Subtype-Selective Ligands and Clinical Potential. *Steroids.* 2014;90:13–29.
13. Vrtačnik P, Ostanek B, Mencej-Bedrač S, Marc J. The many faces of estrogen signaling. *Biochem Medica.* 2014;24:329–342.
14. Maioli S, Leander K, Nilsson P, Navarte I. Estrogen receptors and the aging brain. *Essays Biochem.* 2021;65:913–925.
15. Sarah H, Schreiber CA, Sonalkar S, Feingold KR, Anawalt B. Contraception, In: *Endotext [Internet].* 2018.
16. Cooper DB, Patel P, Mahdy H. Oral Contraceptive Pills, In: *StatPearls [Internet].* 2022.
17. Teal S, Edelman A. Contraception Selection, Effectiveness, and Adverse Effects: A Review. *JAMA.* 2021;326:2507–2518.
18. Bustamante-Barrientos FA, Méndez-Ruette M, Ortloff A, Luz-Crawford P, Rivera FJ, Figueroa CD, et al. The Impact of Estrogen and Estrogen-Like Molecules in Neurogenesis and Neurodegeneration: Beneficial or Harmful? *Front Cell Neurosci.* 2021;15:1–19.
19. Santoro N, Epperson CN, Mathews SB. Menopausal Symptoms and Their Management. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2015;44:497–515.
20. Zhang GQ, Chen JL, Luo Y, Mathur MB, Anagnostis P, Nurmatov U, et al. Menopausal hormone therapy and women’s health: An umbrella review. *PLoS Med.* 2021;18:1–27.
21. Valdes A, Bajaj T. Estrogen Therapy, In: *StatPearls [Internet].* 2021.
22. Freedman RR. Menopausal Hot flashes: Mechanisms, Endocrinology, Treatment. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014;142:115–120.
23. Morrow PKH, Mattair DN, Hortobagyi GN. Hot Flashes: A Review of Pathophysiology and Treatment Modalities. *Oncologist.* 2011;16:1658–1664.

24. Avis NE, Crawford SL, Green R. Vasomotor Symptoms Across the Menopause Transition: Differences Among Women. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2018;45:629–640.
25. Taylor AP, Lee H, Webb ML, Joffe H, Finkelstein JS. Effects of testosterone and estradiol deficiency on vasomotor symptoms in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101:3479–3486.
26. Engstrom CA, Kasper CE. Physiology and endocrinology of hot flashes in prostate cancer. *Am J Mens Health.* 2007;1:8–17.
27. Jones JM, Kohli M, Loprinzi CL. Androgen deprivation therapy-associated vasomotor symptoms. *Asian J Androl.* 2012;14:193–197.
28. Santoro N, Roeca C, Peters BA, Neal-Perry G. The Menopause Transition: Signs, Symptoms, and Management Options. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2021;106(1):1–15. Available from: <https://academic.oup.com/jcem1>
29. Dean J, Keshavan M. The neurobiology of depression: An integrated view. *Asian J Psychiatr.* 2017;27:101–11.
30. Merchenthaler I, Lane M, Stennett C, Zhan M, Nguyen V, Prokai-Tatrai K, et al. Brain-selective estrogen therapy prevents androgen deprivation-associated hot flashes in a rat model. *Pharmaceuticals.* 2020;13:1–10.
31. Hill A, Crider M, Hill S. Hormone Therapy and Other Treatments for Symptoms of Menopause. *Am Fam Physician.* 2016;94:884–889.
32. Stubbs C, Mattingly L, Crawford SA, Wickersham EA, Brockhaus JL, McCarthy LH. Do SSRIs and SNRIs reduce the frequency and/or severity of hot flashes in menopausal women. *J Okla State Med Assoc.* 2017;110:272–274.
33. Sicut BL, Brokaw DK. Nonhormonal Alternatives for the Treatment of Hot Flashes. *Pharmacotherapy.* 2004;24:79–93.
34. Merchenthaler I, Lane M, Sabnis G, Brodie A, Nguyen V, Prokai L, et al. Treatment with an orally bioavailable prodrug of 17 β -estradiol alleviates hot flashes without hormonal effects in the periphery. *Sci Rep.* 2016;6:1–9.
35. Hwang WJ, Lee TY, Kim NS, Kwon JS. The role of estrogen receptors and their signaling across psychiatric disorders. *Int J Mol Sci.* 2021;22:1–21.
36. Bojar I, Pinkas J, Wierzbińska-Stepniak A, Racziewicz D, Owoc A, Gujski M. Cognitive functions, concentration of endogenous estradiol, estrogen receptor α (ER α)

- polymorphism in postmenopausal women. *Med Sci Monit.* 2016;22:3469–3478.
37. Prokai-Tatrai K, Xin H, Nguyen V, Szarka S, Blazics B, Prokai L, et al. 17 β -Estradiol eye drops protect the retinal ganglion cell layer and preserve visual function in an in vivo model of glaucoma. *Mol Pharm.* 2013;10:3253–3261.
 38. Del Río JP, Alliende MI, Molina N, Serrano FG, Molina S, Vigil P. Steroid Hormones and Their Action in Women's Brains: The Importance of Hormonal Balance. *Front Public Heal.* 2018;6:1–15.
 39. Pompili A, Iorio C, Gasbarri A. Effects of sex steroid hormones on memory. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2020;80:117–128.
 40. Khan S, Barve KH, Kumar MS. Recent Advancements in Pathogenesis, Diagnostics and Treatment of Alzheimer's Disease. *Curr Neuropharmacol.* 2020;18:1106–1125.
 41. Breijyeh Z, Karaman R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules.* 2020;25.
 42. Uddin MS, Rahman MM, Jakaria M, Rahman MS, Hossain MS, Islam A, et al. Estrogen Signaling in Alzheimer's Disease: Molecular Insights and Therapeutic Targets for Alzheimer's Dementia. *Mol Neurobiol.* 2020;57:2654–2670.
 43. Knopman DS, Amieva H, Petersen RC, Chetelat G. Alzheimer disease. *Nat Rev Dis Prim.* 2021;7:47.
 44. Chen XQ, Mobley WC. Alzheimer Disease Pathogenesis: Insights From Molecular and Cellular Biology Studies of Oligomeric A β and Tau Species. *Front Neurosci.* 2019;13:1–21.
 45. Barron AM, Pike CJ. Sex hormones, aging, and Alzheimer's disease. *Front Biosci - Elit Ed.* 2012;4:976–997.
 46. Spires-Jones TL, Hyman BT. The intersection of amyloid beta and tau at synapses in Alzheimer's disease. 2014;82:756–771.
 47. Naseri NN, Wang H, Guo J, Sharma M, Luo W. The complexity of tau in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett.* 2019;705:183–194.
 48. Ferreira-Vieira TH, Guimaraes IM, Silva FR, Ribeiro FM. Alzheimer's Disease: Targeting the Cholinergic System. *Curr Neuropharmacol.* 2016;14:101–115.
 49. Briggs R, Kennelly SP, O'Neill D. Drug treatments in Alzheimer's disease. *Clin Med (Northfield Il).* 2016;16:247–253.

50. Sharma K. Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics (Review). *Mol Med Rep.* 2019;20:1479–187.
51. Sahab-Negah S, Hajali V, Moradi HR, Gorji A. The Impact of Estradiol on Neurogenesis and Cognitive Functions in Alzheimer's Disease. *Cell Mol Neurobiol.* 2020;40:283–299.
52. Scott E, Zhang Q-G, Wang R, Vadlamudi R, Brann D. Estrogen neuroprotection and the critical period hypothesis. *Front Neuroendocrinol.* 2012;33:85–104.
53. Guo H, Liu M, Zhang L, Wang L, Hou W, Ma Y, et al. The Critical Period for Neuroprotection by Estrogen Replacement Therapy and the Potential Underlying Mechanisms. *Curr Neuropharmacol.* 2020;18:485–500.
54. Rasgon NL, Altshuler LL, Fairbanks L. Estrogen-replacement therapy for depression. *Am J Psychiatry.* 2001;
55. Greenberg J, Tesfazion AA, Robinson CS. Screening, Diagnosis, and Treatment of Depression. *Mil Med.* 2012;177:60–66.
56. S Malhi G, Mann JJ. Depression. *Lancet.* 2018;392:2299–2312.
57. Felger JC, Lotrich FE. Inflammatory cytokines in depression: neurobiological mechanisms and therapeutic implications. *Neuroscience.* 2013;199–229.
58. Howard P, Twycross R, Shuster J, Mihalyo M, Wilcock A. Antidepressant drugs. *J Pain Symptom Manage.* 2012;44:763–783.
59. Gillman PK. Tricyclic antidepressant pharmacology and therapeutic drug interactions updated. Vol. 151, *British Journal of Pharmacology.* 2007. p. 737–748.
60. Flockhart DA. Dietary Restrictions and Drug Interactions With Monoamine Oxidase Inhibitors: An Update. *J Clin Psychiatry.* 2012;73:17–24.
61. Li C, Xie M, Wang W, Liu Y, Liao D, Yin J, et al. Association Between Polymorphisms in Estrogen Receptor Genes and Depression in Women: A Meta-Analysis. *Front Genet.* 2022;13:1–10.
62. Hernandez-Hernandez OT, Martinez-Mota L, Herrera-Perez JJ, Jimenez-Rubio G. Role of Estradiol in the Expression of Genes Involved in Serotonin Neurotransmission: Implications for Female Depression. *Curr Neuropharmacol.* 2019;17:459–471.
63. Grigoriadis S, Kenned S. Role of estrogen in the treatment of depression. *Am J Ther.* 2002;9:503–509.
64. Dwyer JB, Aftab A, Radhakrishnan R, Widge A. Hormonal Treatments for Major

- Depressive Disorder: State of the Art. *Am J Psychiatry*. 2020;686–705.
65. Mattiuzzi C, Lippi G. Current cancer epidemiology. *J Epidemiol Glob Health*. 2019;9:217–222.
 66. Roy PS, Saikia BJ. Cancer and cure: A critical analysis. *Indian J Cancer*. 2016;53:441–442.
 67. Heldring N, Pike A, Andersson S, Matthews J, Cheng G, Hartman J, et al. Estrogen receptors: How do they signal and what are their targets. *Physiol Rev*. 2007;87:905–931.
 68. Xie F, Peng F. Reduction in copper uptake and inhibition of prostate cancer cell proliferation by novel steroid-based compounds. *Anticancer Res*. 2021;41:5953–5958.
 69. Kang JM, Tanna AP. Glaucoma. *Med Clin North Am*. 2021;105:493–510.
 70. Marchesi N, Fahmideh F, Boschi F, Pascale A, Barbieri A. Ocular Neurodegenerative Diseases : Interconnection between Retina and Cortical Areas. *Cells*. 2021;10.
 71. Mead B, Tomarev S. Evaluating retinal ganglion cell loss and dysfunction. *Exp Eye Res*. 2016;151:96–106.
 72. Zhang X, Li S, Tang Y, Guo Y, Gao S. Intractable Ocular Diseases and Treatment Progress. *AAPS PharmSciTech*. 2020;21:236.
 73. Flores VA, Pal L, Manson JE. Hormone Therapy in Menopause: Concepts, Controversies, and Approach to Treatment. *Endocr Rev*. 2021;42:720–752.
 74. Prokai L, Nguyen V, Szarka S, Garg P, Sabnis G, Mclaughlin KJ, et al. The prodrug DHED selectively delivers 17 β -estradiol to the brain for treating estrogen-responsive disorders. *Sci Transl Med*. 2015;7:1–21.
 75. Prokai-Tatrai K, Prokai L. A novel prodrug approach for central nervous system-selective estrogen therapy. *Molecules*. 2019;24:1–17.
 76. Rautio J, Laine K, Gynther M, Savolainen J. Prodrug approaches for CNS delivery. *AAPS J*. 2008;10:92–102.
 77. Ettmayer P, Amidon GL, Clement B, Testa B. Lessons Learned from Marketed and Investigational Prodrugs. *J Med Chem*. 2004;47:2393–23404.
 78. Cenini G, Lloret A, Cascella R. Oxidative stress in neurodegenerative diseases: From a mitochondrial point of view. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:1–18.
 79. Prokai L, Prokai-Tatrai K, Perjesi P, Zharikova AD, Perez EJ, Liu R, et al. Quinol-based

- cyclic antioxidant mechanism in estrogen neuroprotection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100:11741–11746.
80. Lee AJ, Cai MX, Thomas PE, Conney AH, Zhu BT. Characterization of the oxidative metabolites of 17 β -estradiol and estrone formed by 15 selectively expressed human cytochrome P450 isoforms. *Endocrinology*. 2003;144:3382–3398.
 81. Prokai-Tatrai K, Perjesi P, Rivera-Portalatin N, Simpkins J, Prokai L. Mechanistic investigations on the antioxidant action of a neuroprotective estrogen derivative. *Steroids*. 2008;73:280–288.
 82. Prokai L, Prokai K, Simpkins J. *EP 1 490 392 B1*.
 83. Mezzanotte L, van 't Root M, Karatas H, Goun EA, Löwik CWGM. In Vivo Molecular Bioluminescence Imaging: New Tools and Applications. *Trends Biotechnol*. 2017;35:640–652.
 84. Bimonte-Nelson HA, Acosta JI, Talboom JS. Neuroscientists as cartographers: Mapping the crossroads of gonadal hormones, memory and age using animal models. *Molecules*. 2010;15:6050–6105.
 85. Tschiffely AE, Schuch RA, Prokai-Tatrai K, Prokai L, Ottinger MA. A comparative evaluation of treatments with 17 β -estradiol and its brain-selective prodrug in a double-transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Horm Behav*. 2016;83:39–44.
 86. Tschiffely AE, Schuh RA, Prokai-Tatrai K, Ottinger MA, Prokai L. An exploratory investigation of brain-selective estrogen treatment in males using a mouse model of Alzheimer's disease. *Horm Behav*. 2018;16–21.
 87. Prokai-Tatrai K, Nguyen V, De La Cruz DL, Guerra R, Zaman K, Rahlouni F, et al. Retina-targeted delivery of 17 β -estradiol by the topically applied DHED prodrug. *Pharmaceutics*. 2020;12:1–12.
 88. Prokai-Tatrai K, Zaman K, Nguyen V, De La Cruz DL, Prokai L. Proteomics-based retinal target engagement analysis and retina-targeted delivery of 17 β -estradiol by the DHED prodrug for ocular neurotherapy in males. *Pharmaceutics*. 2021;13:1–17.
 89. Reiserer RS, Harrison FE, Syverud DC, McDonald MP. Impaired spatial learning in the APPSwe + PSEN1 Δ E9 bigenic mouse model of Alzheimer's disease. *Genes, Brain Behav*. 2007;6:54–65.
 90. Merchenthaler I. The effect of estrogens and antiestrogens in rat models of hot flush. *DRUG Dev Res*. 2006;182–188.

91. Moiseev R V, Morrison PWJ, Steele F, Khutoryanskiy V V. Penetration Enhancers in Ocular Drug Delivery. *Pharmaceutics*. 2019;11:1–33.
92. Toran-Allerand CD, Tinnikov AA, Singh RJ, Nethrapalli IS. 17 α -estradiol: a brain-active estrogen? *Endocrinology*. 2005;146:3843–3850.
93. Maclusky NJ, Luine VN, Hajszan T, Leranath C. The 17 α and 17 β isomers of estradiol both induce rapid spine synapse formation in the CA1 hippocampal subfield of ovariectomized female rats. *Endocrinology*. 2005;146:287–2893.
94. Prokai-Tatrai K, Nguyen V, Prokai L. 10 β ,17 α -Dihydroxyestra-1,4-dien-3-one: A bioprecursor prodrug preferentially producing 17 α -estradiol in the brain for targeted neurotherapy. *ACS Chem Neurosci*. 2018;9:2528–2533.
95. Bogdanova O V., Kanekar S, D’Anci KE, Renshaw PF. Factors influencing behavior in the forced swim test. *Physiol Behav*. 2013;118:227–239.
96. Canário C, Matias M, Brito V de, Cruz-Vicente P, Soeiro P, Santos AO, et al. 10 β -Hydroxyestra-1,4-diene-3,17-dione as potential antiproliferative agent: in vitro biological evaluation and in silico studies. *Nat Prod Res*. 2022;
97. Mili DR, Kop T, Jurani Z, Gaši MJ, Šolaja BA. Synthesis and Antiproliferative Activity of Epoxy and Bromo Compounds Derived from Estrone Dragana. *Bioorganic Med Chem Lett*. 2001;11:2197–2200.

Capítulo II – Experiência profissionalizante na vertente de farmácia comunitária

1. Introdução

A farmácia comunitária é um local de prestação de cuidados de saúde, sendo muitas vezes o primeiro estabelecimento de saúde onde os portugueses se dirigem quando se deparam com um problema de saúde ou dúvida, demonstrando, assim, a proximidade e confiança entre o farmacêutico e a população.

O farmacêutico comunitário desempenha variadas funções centradas na população e nas suas necessidades. Atualmente, os Cuidados Farmacêuticos abrangem um conjunto de funções tais como a cedência de medicamentos, revisão da terapêutica, educação

para a saúde, farmacovigilância, seguimento terapêutico e, de um modo geral o uso racional do medicamento (1).

O estágio curricular proporciona aos estudantes a oportunidade de contactar diretamente com a realidade profissional da farmácia comunitária e, de colocar em prática os conhecimentos técnico-científicos obtidos ao longo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

O meu estágio decorreu de 22 de Fevereiro a 9 de Julho de 2021 na Farmácia Queija Ferreira (FQF), no Porto, sob a orientação do Dr. Carlos Queija Ferreira e restante equipa.

2. Farmácia Queija Ferreira

2.1. Localização

A Farmácia Queija Ferreira localiza-se na Avenida Fernão Magalhães, na freguesia das Antas, no concelho do Porto.

Foi fundada em 1980, num pequeno espaço em Campanhã. Em 1983, foi transferida para a Rua Vasques de Mesquita, nas Antas, onde permaneceu durante 27 anos. Em 2010, devido ao constante crescimento, teve a necessidade de se expandir, mudando-se para as atuais instalações na Avenida Fernão Magalhães.

A farmácia tem uma localização privilegiada, numa avenida bastante movimentada do Porto, devido à sua proximidade a inúmeros serviços, estabelecimentos comerciais, clínicas e residências, acessos rodoviários e transportes públicos. Estes fatores, bem como o alargado horário de funcionamento, contribuem para a grande afluência e heterogeneidade de utentes. A maioria dos utentes habituais da FQF pertencem à classe média-alta, mas também é comum o atendimento de utentes de uma classe socioeconómica mais baixa.

2.2. Horário de funcionamento

A FQF encontra-se aberta todos os dias do ano, à exceção do dia de Natal. O horário de funcionamento nos dias úteis é das 8h30 às 00h00 e, aos fins de semana e feriados das

9h00 às 22h00, pelo que cumpre o período mínimo de funcionamento semanal de 44h definido no ponto 1 do artigo 2º da Portaria nº 277/2012, de 12 de setembro (2).

O meu horário de estágio consistia das 9h00 às 17h30, tive ainda a oportunidade de fazer o turno das 17h30 às 00h00 e um fim de semana, de modo a experienciar diferentes ambientes e a contactar com diferentes perfis de utentes. Apercebi-me que nos dias úteis é mais comum o atendimento de utentes mais idosos e de utentes habituais, enquanto, aos fins de semanas é mais frequente o atendimento de utentes pontuais e de faixas etárias mais novas.

2.3. Espaço exterior

No seu exterior, a FQF está identificada com uma cruz verde luminosa e por um letreiro “FARMÁCIA” juntamente com o logótipo da farmácia. Informações como o nome do Diretor Técnico (DT), o horário de funcionamento e os serviços disponíveis encontram-se afixados num local visível (3).

De modo a facilitar o acesso a utentes com mobilidade reduzida, a entrada está adaptada com uma rampa e uma porta de vidro automática.

Na fachada, a FQF possui montras que são atualizadas periodicamente consoante as campanhas em vigor.

2.4. Espaço interior

O espaço interior da FQF é constituído por diversas áreas como a área de atendimento, a área de armazenamento, o armazém, a área de receção de encomendas e apoio ao atendimento, o laboratório, a sala de Preparação Individualizada de Medicação, o Gabinete de Boas Práticas, o escritório do DT, o gabinete onde se realizam as consultas de podologia, a sala de refeições e as instalações sanitárias.

A área de atendimento da FQF é um espaço amplo, organizado e luminoso, constituído por 6 balcões de atendimento, afastados entre si, assegurando a privacidade do utente. Devido à pandemia, cada balcão está adaptado com um acrílico, de modo a evitar o contágio. Atrás dos balcões encontram-se gavetas com medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRMs) com elevada rotatividade de stock, de maneira a facilitar o seu acesso e tornar o atendimento mais ágil. Nas gavetas, os MNSRMs estão

organizados segundo a sua finalidade, por exemplo para o alívio de dor de garganta e para distúrbios gastrointestinais. Ao longo do espaço de atendimento, estão expostos lineares e gôndolas com produtos de dermocosmética, higiene oral e puericultura, aos quais os utentes têm acesso direto e, por isso, estão devidamente etiquetados com o Preço de Venda ao Público (PVP). Existe também à disposição dos utentes uma balança.

Na área de armazenamento, subjacente à zona de atendimento, encontra-se um armário com gavetas deslizantes, onde os medicamentos estão organizados por forma farmacêutica, ordem alfabética, dosagem, quantidade contida na embalagem e prazo de validade. Existem também prateleiras designadas para produtos com baixa rotatividade de stock e para reservas feitas por utentes. O frigorífico, onde são armazenados os produtos que necessitam de ser conservados entre 2-8°C (como insulinas, vacinas e alguns colírios), também se encontra nesta zona.

No armazém, encontram-se os medicamentos e produtos excedentes que não têm espaço nas gavetas e lineares.

O laboratório é o local onde são preparados os manipulados e as preparações extemporâneas e, realizada a separação por kits dos autotestes à Covid-19.

No Gabinete de Boas Práticas é realizada a medição da pressão arterial e de parâmetros bioquímicos, aplicação de injetáveis e vacinas e, situações em que os utentes necessitam de uma maior privacidade.

2.5. Recursos humanos

A FQF temo como DT e proprietário o Dr. Carlos Queija Ferreira, que coordena uma equipa de 13 profissionais. Integram o quadro farmacêutico, a Dra. Liliana Pontes como farmacêutica adjunta, a Dra. Catarina Pinto, o Dr. Diogo Diniz, a Dra. Eduarda Vilares, a Dra. Inês Oliveira, a Dra. Margarida Silva, a Dr. Mariana Batista, o Dr. Nuno Guedes, o Dr. Pedro Oliveira e a Dra. Rita Rodrigues. O quadro não farmacêutico é formado pelos Técnicos de Farmácia Filipe Dias, Odete Ferreira e Tiago Ferreira. O serviço de podologia é realizado por uma colaboradora externa.

Assim, os recursos humanos da FQF estão de acordo com o artigo 23º do Decreto-Lei nº 307/2007, de 31 de agosto, alterado pelo Decreto-Lei nº 171/2012, de 1 de agosto, que menciona que as farmácias devem ter um DT e pelo menos um farmacêutico,

devendo a maioria dos recursos humanos da farmácia ser formada, preferencialmente, por farmacêuticos (4).

2.6. Sistema informático

Na FQF, o sistema informático (SI) utilizado é o Sifarma2000®, está instalado em todos os computadores da FQF, inclusive na zona de receção de encomendas.

O Sifarma2000® é fundamental no quotidiano e funcionamento da farmácia, pois apresenta várias funções, como a realização do atendimento, criação e receção de encomendas, devoluções e regularização, gestão de stocks, controlo dos prazos de validade e faturação.

Durante o atendimento é de realçar a sua importância, pois permite aceder a informação científica específica de cada medicamento tal como a sua composição qualitativa e quantitativa, classificação Anatómico-Terapêutico-Químico (ATC), indicações terapêuticas, posologia, interações medicamentosas, contraindicações e efeitos adversos.

O SI também permite criar a ficha do utente, onde é possível verificar o histórico de medicamentos e produtos adquiridos na farmácia, o que possibilita ao farmacêutico um acompanhamento fármaco-terapêutico mais eficaz de cada utente.

Cada membro da equipa tem um código pessoal, para ser mais fácil identificar quem realizou uma determinada tarefa, caso surjam dúvidas após a sua execução.

Considero, principalmente enquanto estagiária, a informação científica acima referida disponibilizada pelo Sifarma uma mais valia durante o atendimento, ajudando no esclarecimento de algumas questões que surgiam. Também considero a verificação no final do atendimento essencial, pois diminui os erros de dispensa, uma vez que deteta se algum medicamento está em falta, em excesso ou trocado.

3. Aprovisionamento e armazenamento

3.1. Fornecedores e critérios de seleção de um fornecedor

Os distribuidores grossistas (fornecedores) são os intermediários entre as farmácias e os laboratórios. A aquisição de produtos farmacêuticos pelas farmácias pode ser feita

diretamente aos laboratórios ou aos fornecedores. As encomendas feitas ao laboratório são normalmente encomendas de grande volume, correspondendo às encomendas do final do mês.

A seleção do fornecedor depende de vários fatores, nomeadamente no que respeita à parte financeira (preços, descontos, bonificações) e à qualidade do serviço (disponibilidade dos produtos, número de entregas diárias, facilidade nas devoluções e acesso a produtos rateados). Este processo é de extrema importância, uma vez que assume um papel significativo na gestão da farmácia.

A FQF tem como fornecedor principal a Alliance Healthcare® e, como fornecedores alternativos a OCP Portugal® e a COOPROFAR®, aos quais recorre quando as condições de certos produtos são melhores ou quando algum produto se encontra esgotado no fornecedor principal. A existência de 3 fornecedores permite uma rápida reposição de stocks e, conseqüentemente, uma maior oferta de produtos e maior rapidez na dispensa do produto ao utente.

3.2. Elaboração de encomendas

Existem 3 tipos de encomendas que podem ser realizadas aos distribuidores grossistas: diária, instantânea ou “via verde”.

A encomenda diária é criada automaticamente pelo Sifarma, com base no stock mínimo e máximo previamente definidos para cada produto. Em seguida, esta é verificada e aprovada pelo farmacêutico responsável, que pode alterar a quantidade a encomendar de um produto consoante as necessidades. Existe também a encomenda diária manual, que é feita manualmente pelo farmacêutico com as faltas que o SI não reconhece.

A encomenda instantânea é realizada pontualmente e, normalmente, durante o atendimento, aplica-se a produtos com baixa rotatividade e que se encontram esgotados no fornecedor principal. A encomenda instantânea pode ser realizada através do SI ou por telefone. Através da simulação da encomenda instantânea, é possível verificar se o produto se encontra disponível, esgotado ou descontinuado e, caso esteja disponível, informar o utente do dia e hora de chegada do produto à farmácia.

A encomenda por “via verde” é realizada excepcionalmente para obter medicamentos rateados, ou seja, medicamentos com baixa disponibilidade que se encontram esgotados. É necessária uma receita médica válida nas encomendas por “via verde”.

Para além das encomendas supramencionadas aos distribuidores grossistas, a FQF realiza também encomendas diretamente aos laboratórios. A encomenda direta ao laboratório tem vantagens para a farmácia, pois ao comprar um maior volume de produtos, consegue obter melhores descontos, bonificações e condições de pagamento.

3.3. Receção e conferência de encomendas

As encomendas chegam à farmácia em contentores próprios com a identificação da farmácia e a identificação do fornecedor. Relativamente aos produtos de frio, estes são transportados em contentores térmicos e são tidos como prioridade na receção das encomendas, de modo a serem rapidamente colocados no frigorífico.

A receção de encomendas realiza-se na “Receção de Encomendas” do Sifarma 2000, onde é selecionada a encomenda a rececionar. De seguida, é colocado o número da fatura e o valor total, que terá de corresponder à soma do valor de todos os produtos da encomenda. De seguida, procede-se à leitura ótica de cada produto ou introduz-se manualmente o Código Nacional do Produto (CNP). À medida que se procede à leitura ótica dos produtos, deve-se verificar a integridade das embalagens e a validade dos produtos. Posto isto, são conferidas as quantidades pedidas e enviadas e, corrigido o Preço de Venda à Farmácia (PVF) e o PVP. No caso de produtos cujo PVP não é fixo, o preço é estabelecido de acordo com o PVP, IVA e margem de lucro para a farmácia. Por fim, verifica-se se o valor total obtido e o valor da fatura correspondem, no caso de serem iguais, a receção é concluída e os produtos armazenados.

Os produtos que não possuem PVP na embalagem e que se encontram expostos ao público, devem ser etiquetados com o CNP e PVP.

A receção e conferência de encomendas foi uma das primeiras funções que realizei durante o estágio na FQF, de modo a familiarizar-me com os vários produtos existentes na farmácia, nome comercial dos medicamentos, os vários laboratórios existentes e, com o Sifarma.

3.4. Gestão de stocks

Uma adequada gestão de stock dos medicamentos e de outros produtos farmacêuticos é fundamental, de modo a garantir a sua disponibilidade aos utentes, prevenir ruturas de stock e o excesso desnecessário de produtos.

Assim, com base na rotatividade do produto e no volume de vendas, é possível definir no Sifarma o stock mínimo e máximo de cada produto. Quando os produtos atingem o stock mínimo, o SI gera automaticamente uma proposta de encomenda diária que é posteriormente verificada e aprovada antes do seu envio.

É importante ter em conta a época do ano para selecionar quais os produtos a encomendar, uma vez que há produtos que são mais procurados em determinadas épocas do ano, por exemplo, como é o caso de medicamentos antigripais no inverno, anti-histamínicos na primavera e produtos de proteção solar no verão.

3.5. Armazenamento

Um armazenamento correto dos produtos é fundamental para que durante o atendimento o farmacêutico identifique facilmente o produto e o atendimento seja ágil. O armazenamento de produtos foi uma tarefa que realizei ao longo do estágio, sobretudo nas primeiras semanas, o que foi importante para conhecer a organização dos vários produtos na farmácia e a sua rotatividade, tornando posteriormente o atendimento mais fluído.

Os medicamentos e outros produtos devem ser conservados em condições adequadas, sendo a humidade e a temperatura controladas, através de termohigrómetros.

Na FQF, os medicamentos são armazenados em gavetas deslizantes segundo a sua forma farmacêutica ou indicação terapêutica: comprimidos e cápsulas, saquetas/pós, xaropes, antibióticos, antibióticos em xarope, ampolas bebíveis, produtos de uso externo, colírios e gotas, aerossóis, pomadas e cremes, soluções e pós de uso cutâneo, anticoncepcionais, supositórios e óvulos, injetáveis, produtos incluídos no Protocolo Diabetes (tiras reativas e lancetas), produtos de uso veterinário, e psicotrópicos. Dentro de cada categoria, os medicamentos estão organizados por ordem alfabética do nome comercial ou Denominação Comum Internacional (DCI), dosagem, quantidade de comprimidos e prazo de validade. Os produtos de frio são conservados no frigorífico entre os 2-8°C. Na zona de atendimento, os produtos de dermocosmética, higiene oral e puericultura são expostos em gôndolas e lineares. Os MNSRM de grande rotatividade encontram-se em gavetas atrás dos balcões de atendimento, como já referido

anteriormente. Os produtos excedentes, são devidamente colocados no armazém, conforme se trate de MNSRM, medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM), medicamentos genéricos ou produtos de dermocosmética.

3.6. Controlo dos prazos de validade

O controlo dos prazos de validade é de extrema importância, pois permite garantir a segurança e qualidade dos produtos dispensados e, garantir que nenhum produto é dispensado fora do prazo de validade.

Este controlo é realizado diariamente no momento da receção de encomendas, o prazo de validade é corrigido no Sifarma quando o produto tem stock zero ou uma validade inferior ao stock já existente na farmácia.

Para além disto, periodicamente é impressa uma lista de controlo de prazos de validade emitida pelo SI, que contém os produtos cujo prazo de validade expira em 6 meses. De seguida, procede-se à verificação manual dos prazos de validade e stocks, sendo esta registada no SI, atualizando os prazos de validade. Os produtos com um prazo de validade igual ou inferior a 3 meses são separados dos restantes ou assinalados com uma etiqueta, de modo a serem dispensados em primeiro lugar. Se tal não for possível, o produto é devolvido ao fornecedor.

3.7. Devoluções

A devolução de produtos pode ser feita por várias razões, tais como: produtos danificados, pedidos por engano ou não encomendados, quantidades superiores às do pedido da encomenda, desistência por parte do utente do produto encomendado, produtos em processo de retirada do mercado e, produtos que se encontram próximos do fim do prazo de validade.

Quando se pretende devolver um produto é emitida uma nota de devolução através do SI, onde consta a identificação da farmácia, do fornecedor, do produto, a quantidade a devolver, o motivo da devolução e o número da fatura correspondente. Os produtos são devolvidos ao fornecedor com o original e o duplicado da nota de devolução, sendo o triplicado arquivado na farmácia como comprovativo até posterior regularização.

No caso de a devolução ser aceite, é emitida uma nota de crédito a descontar no pagamento seguinte ou são enviados novos produtos. Se a devolução não for aceite, os produtos são devolvidos à farmácia com uma guia de transporte e, podem ser reintroduzidos no stock da farmácia se estiverem em condições para dispensa, caso contrário, são dados como quebra.

4. Dispensa de medicamentos

Em farmácia comunitária, a dispensa de medicamentos é uma das principais funções e de maior responsabilidade do farmacêutico, que deve promover o uso responsável dos medicamentos e garantir o sucesso terapêutico.

No ato da dispensa de medicamentos, após a avaliação da medicação, o farmacêutico dispensa medicamentos aos utentes mediante apresentação de prescrição médica, ou em regime de automedicação ou indicação farmacêutica, fornecendo ao utente toda a informação necessária para um uso correto dos medicamentos (1).

De acordo com a sua dispensa, os medicamentos classificam-se em MSRM e MNSRM.

4.1. Dispensa de medicamentos sujeitos a receita médica

Segundo o ponto 1 do artigo 114^o do Decreto-Lei n^o 176/2006, de 30 de agosto, são MSRM aqueles que reúnam uma das seguintes condições: constituem um risco para a saúde, mesmo quando usados para o fim a que se destinam, caso sejam utilizados sem vigilância médica; constituem um risco para a saúde, quando utilizados com frequência em quantidades consideráveis para fins diferentes daquele a que se destinam; contêm substâncias cuja atividade ou reações adversas ainda não se encontram bem definidas; ou se destinem a ser administrados por via parentérica.

Para dispensar este tipo de medicamentos é necessária a apresentação de uma prescrição médica.

4.1.1. Receitas médicas e respetiva validação

Existem três tipos de receitas médicas: receitas manuais, receitas eletrónicas materializadas e receitas eletrónicas desmaterializadas.

- **Receitas manuais**

Nas receitas manuais os medicamentos são inseridos manualmente, pelo que é essencial uma correta interpretação da receita por parte do farmacêutico. O farmacêutico deverá validar a receita, verificando os parâmetros de preenchimento obrigatório como o número da receita, nome e número do Serviço Nacional de Saúde (SNS) do utente, regime de comparticipação (se aplicável), vinheta e assinatura do prescriptor, exceção legal, medicação prescrita (DCI da substância ativa ou nome comercial, a dosagem e o número de unidades do medicamento), data de emissão (com validade de 30 dias) e local de prescrição (se aplicável).

As receitas devem ser preferencialmente eletrónicas, recorrendo-se às receitas manuais apenas em caso de falência do SI, inadaptação fundamentada do prescriptor, prescrição ao domicílio ou limite de 40 receitas médicas por mês.

Relativamente à medicação prescrita, na receita manual apenas podem constar até 4 medicamentos diferentes, com um máximo de 4 embalagens por receita e um máximo de 2 embalagens por medicamento. Com exceção, no caso de medicamentos de embalagem unitária, podendo ser prescritas até 4 embalagens deste (5).

As receitas manuais têm algumas desvantagens, como o facto de não serem renováveis, pelo que o utente tem um máximo de 30 dias após a data de emissão para utilizar a receita, bem como o facto, de Medicamentos Psicotrópicos e Estupefacientes (MPE) não puderem ser prescritos na mesma receita manual de outros medicamentos.

Após a dispensa, no verso da receita é impresso o documento de faturação com a entidade responsável pela comparticipação e a percentagem de comparticipação, documento que deve ser assinado pelo utente.

No final de cada mês, as receitas manuais são verificadas e organizadas por número de receita e em lotes de 30 receitas para serem enviadas à entidade responsável pela comparticipação, a qual depois de validar as receitas, efetua o pagamento à farmácia do valor das comparticipações.

- **Receitas eletrónicas materializadas**

As receitas eletrónicas materializadas são muito semelhantes às receitas manuais, tendo a vantagem sobre manuais, de permitirem a leitura ótica do Código Nacional

para a Prescrição Eletrónica de Medicamentos (CNPM), o que diminui eventuais erros de dispensa associados às receitas manuais. As receitas eletrónicas materializadas são formadas por uma guia de tratamento para o utente e uma via de farmácia onde constam o CNPM.

Quanto à validade, as receitas eletrónicas materializadas têm um prazo de 30 dias a partir da sua data de emissão. No entanto, a receita pode ser renovável quando contém medicamentos destinados a tratamentos de longa duração.

- **Receitas eletrónicas desmaterializadas**

As receitas eletrónicas desmaterializadas podem apresentar-se em formato eletrónico (mensagem ou email) ou em formato de papel.

Estas receitas apresentam várias vantagens: diminuem erros na dispensa e falsificações, a faturação automática ao SNS, permitem a prescrição de um maior número de medicamentos diferentes e de uma maior quantidade de embalagens destes. Em tratamentos de longa duração, permite prescrever até 6 embalagens de um medicamento com uma validade de 6 meses. No caso de tratamento de curta ou média duração, até 2 embalagens com uma validade de 2 meses. Neste tipo de receita, os utentes podem levantar o número de embalagens conforme necessitam e adquirir as restantes embalagens mais tarde.

4.1.2. Regimes de participação

Os regimes de participação de MSRM permitem que uma percentagem do PVP seja suportada pelo SNS ou por outros subsistemas de saúde, sendo o restante pago pelo utente.

Para os beneficiários do SNS existem 2 regimes de participação: regime geral e regime especial.

No regime geral de participação, o Estado é a entidade responsável pela participação de uma percentagem do PVP dos medicamentos, de acordo com o escalão e classificação farmacoterapêutica em que se inserem (6).

No regime especial, a comparticipação varia em função de pensionistas, patologias ou grupos especiais de utentes. No caso de pensionistas, o Estado comparticipa uma percentagem adicional aos escalões mencionados anteriormente. No caso de patologias ou grupos especiais de utentes, a comparticipação em função da patologia inclui doenças como a DA, Lúpus, doença Inflamatória intestinal, doenças oncológicas, entre outras. Na receita médica deve ser mencionado a portaria/ diploma correspondente à patologia em questão, de modo a garantir a comparticipação especial.

Nas receitas manuais é necessário aplicar o plano de comparticipação, que se encontram listados por códigos. Os mais habituais são: o plano 01 correspondente ao regime geral de comparticipação pelo SNS, o plano 48 correspondente ao regime especial de comparticipação do SNS associado a pensionistas, o plano 45 correspondente ao regime geral de comparticipação do SNS associado a uma Portaria/Despacho, e o plano 49 correspondente ao regime especial de pensionistas associado a uma Portaria/Despacho.

Existem ainda subsistemas de saúde que contribuem com uma comparticipação adicional, como por exemplo o Serviço de Assistência Médico-Social (SAMS), EDP-SÁVIDA, Multicare, entre outros. Estes subsistemas de saúde têm de ser introduzidos no SI e o utente deve apresentar o cartão de beneficiário para ser registado no SI. No fim do atendimento, é impresso um documento de faturação que deve ser assinado pelo utente, para mais tarde ser enviado à entidade responsável pelo subsistema de saúde e a farmácia ser reembolsada.

Ao longo do estágio contactei com vários regimes de comparticipação, sendo os mais comuns o regime geral de comparticipação, o regime SNS-Pensionista e o regime direcionado à diabetes. Quanto a subsistemas de saúde, os mais habituais eram o SAMS, SAMS-Quadros e EDP-SÁVIDA.

4.1.3. Dispensa de estupefacientes e psicotrópicos

Os MPE são um grupo de medicamentos sujeitos a um controlo mais rigoroso pelo INFARMED, pois apesar de apresentarem benefícios terapêuticos, podem causar habituação e dependência psíquica e/ou física, e estão muitas vezes associadas a utilização ilícita (7).

Os MPE são regulados pelo Decreto-Lei n.º 15/93, de 22 de Janeiro (8).

Os MPE apenas podem ser dispensados com prescrição médica válida. No caso de uma receita eletrónica materializada ou manual, esta não pode conter outros medicamentos. Na receita eletrónica desmaterializada, podem constar outros medicamentos para além do MPE.

Durante a dispensa de MPE, o Sifarma2000 emite um alerta com o símbolo “PSI” e requer o preenchimento dos dados pessoais do utente (nome completo e morada) e do adquirente (nome completo, morada, data de nascimento, número do cartão de cidadão ou outro válido como carta de condução e data de validade do mesmo).

No final do atendimento, são emitidos dois Documentos de Psicotrópicos com os dados anteriores do utente e adquirente, o operador que efetuou a dispensa e o número de registo de saída do psicotrópico. Estes documentos ficam arquivados na farmácia durante um período de 3 anos. No caso de se tratar de uma receita manual ou eletrónica materializada, deve ser arquivada uma fotocópia da mesma juntamente com os talões emitidos.

No fim de cada mês, é criada uma lista de saída de MPEs, que é enviada ao INFARMED.

Ao longo do estágio, dispensei várias vezes MPEs. Caso se tratasse da primeira vez que adquiriam esta medicação era necessário explicar a obrigatoriedade da recolha dos dados pessoais. Caso já fosse medicação habitual, o utente já conhecia o procedimento de dispensa.

4.2. Dispensa de medicamentos não sujeitos a receita médica

Os MNSRMs são todos aqueles que não preenchem os requisitos dos MSRM, mencionados anteriormente no ponto 4.1. (7). Dentro destes, existe ainda uma subcategoria, os Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica de Dispensa Exclusiva em Farmácia (MNSRM-EF), que se encontram listados no site do INFARMED.

Os MNSRM não são comparticipados, salvo os casos referidos na legislação que define o regime de comparticipação do Estado no preço dos medicamentos (7).

A automedicação consiste na “utilização de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) de forma responsável, sempre que se destine ao alívio e tratamento de

queixas de saúde passageiras e sem gravidade, com a assistência ou aconselhamento opcional de um profissional de saúde” (9).

Os MNSRM podem ser dispensados por indicação farmacêutica ou por pedido do utente. É responsabilidade do farmacêutico indicar o medicamento mais indicado à situação, a dose e a posologia, e dar todas as informações que considera pertinentes para um uso correto do medicamento.

Para tal, o farmacêutico deve ter conhecimento do problema de saúde em questão, sintomas, duração e se já recorreu a algum medicamento. É também essencial, ter em conta outros problemas de saúde do utente, medicação e alergias medicamentosas. É necessário ter uma atenção especial a grupos mais vulneráveis, como crianças, idosos e grávidas.

Nas situações em que o farmacêutico considera que os sintomas podem estar relacionados com uma patologia mais grave, deve ser indicada a consulta médica.

5. Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde

A FQF dispõe de uma diversa gama de produtos de saúde desde a área da dermocosmética, produtos dietéticos para alimentação especial e infantil, fitoterapia, fitoterapia e suplementos nutricionais. Nesta área, é fundamental que o farmacêutico se mantenha atualizado sobre os novos produtos de modo a prestar um aconselhamento adequado.

5.1. Produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene

Segundo o Decreto-Lei nº 113/2010, de 21 de outubro, um produto cosmético é “qualquer substância ou mistura destinada a ser posta em contacto com as diversas partes superficiais do corpo humano, designadamente epiderme, sistemas piloso e capilar, unhas, lábios e órgãos genitais externos, ou com os dentes e as mucosas bucais, com a finalidade de exclusiva ou principalmente, os limpar, perfumar, modificar o seu aspeto, proteger, manter em bom estado ou de corrigir os odores corporais (10). Estes produtos são regulados pelo INFARMED, que assegura a sua qualidade e segurança.

Os cosméticos abrangem uma vasta gama de produtos, tais como produtos de higiene corporal (géis de banho, champôs, desodorizantes, pastas dentífricas, colutórios), produtos para a pele e produtos capilares.

Na FQF, estes produtos encontram-se na área de atendimento ao público, dispostos por marca, género e faixa etária (bebé, criança e adulto). Cada marca está organizada por gamas, consoante a sua finalidade. Relativamente a produtos para a pele, existem gamas direcionadas a pele atópica, pele seca, pele normal a mista e pele com tendência acneica. Quanto aos produtos capilares, existem produtos dedicados à higiene, bem como produtos direcionados a patologias como a psoríase, e a situações pontuais ou recorrentes como caspa e queda de cabelo.

Na FQF existe uma grande diversidade de marcas de cosméticos, como: Avene®, Á-Derma®, Bioderma®, Caudalie®, Ducray®, Filorga®, Jowae®, Klorane®, Lierac®, Mustela®, Papillon®, Phyto®, Rene Furterer®, Uriage®.

Relativamente a produtos de higiene oral e acessórios ortodontários, destaco as seguintes marcas: Bexidente®, Corega®, Elgydium®, Kukident®, Paradontax® e Sensodyne®.

Nesta área, o farmacêutico deve avaliar se a situação em causa é um problema estético ou se é necessário a referenciação médica.

5.2. Produtos dietéticos para alimentação especial e infantil

Consideram-se produtos dietéticos destinados a uma alimentação especial os “géneros alimentícios sujeitos a processamento ou formulação especial, com vista a satisfazer as necessidades nutricionais de pacientes e para consumo sob supervisão médica, destinando-se à alimentação exclusiva ou parcial de pacientes com capacidade limitada, diminuída ou alterada para ingerir, digerir, absorver, metabolizar ou excretar géneros alimentícios correntes ou alguns dos nutrientes neles contidos ou os seus metabólicos, ou cujo estado de saúde determina necessidades nutricionais particulares que não géneros alimentícios destinados a uma alimentação especial ou por combinação de ambos” (11).

A maioria deste tipo de produtos tem como objetivo satisfazer as necessidades nutricionais do utente, não substituindo uma alimentação equilibrada e variada. Na FQF, o Fortimel® e a Resource® são as marcas mais procuradas.

Quanto aos produtos dietéticos destinados à alimentação infantil, estes são uma alternativa ao aleitamento materno e garantem o suporte nutricional necessário, sendo adaptados às diferentes idades e necessidades. Existem leites para recém-nascidos com

baixo peso, lactentes, leites de transição, leites específicos para a obstipação e cólicas. As principais marcas de leites e papas na FQF são a Aptamil®, a Nan® e a Nutriben®.

5.3. Fitoterapia e suplementos nutricionais

Medicamentos fitoterapêuticos ou à base de plantas são medicamentos cujas propriedades terapêuticas são provenientes de substâncias ativas derivadas de plantas (7).

Ao longo do meu estágio, os medicamentos fitoterapêuticos mais procurados destinavam-se a situações de ansiedade e insónia.

No que diz respeito aos suplementos alimentares, estes têm como finalidade complementar o regime normal de alimentação e são compostos por fontes concentradas de determinadas substâncias com efeito nutricional ou fisiológico; são comercializados em forma doseada, como cápsulas, comprimidos, pastilhas, saquetas de pó, ampolas de líquidos, frascos conta-gotas e outras formas semelhantes, que se destinem a ser tomados em quantidade reduzida (12). Estes produtos são regulados pela Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV).

No meu estágio, os suplementos alimentares pedidos eram maioritariamente destinados à melhoria do desempenho intelectual, diminuição do cansaço e da fadiga, e melhoria de problemas musculares e articulares. Alguns exemplos destes na FQF são o Centrum®, MagnesiumOK®, MentalAction®, Neuralex® e Viterra®. No momento da dispensa destes, o farmacêutico deve mencionar a importância de ter uma alimentação variada e saudável e realçar que, por norma, os efeitos destes produtos não são sentidos de modo imediato, sendo importante a sua manutenção.

Nos produtos supramencionados, o aconselhamento é muito importante. O farmacêutico deve questionar o utente acerca da existência de patologias e medicação habitual, de modo a aconselhar o produto que mais se adequa à situação e a prevenir possíveis interações medicamentosas.

5.4. Medicamentos de uso veterinário

Um medicamento de uso veterinário é “toda a substância, ou associação de substâncias, apresentada como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças em

animais ou dos seus sintomas, ou que possa ser utilizada ou administrada no animal com vista a estabelecer um diagnóstico médico-veterinário ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas” (13).

A entidade que regula os medicamentos de uso veterinário é a DGAV, tal como acontece nos suplementos alimentares.

Ao longo do estágio, os medicamentos veterinários mais solicitados foram antiparasitários internos (Drontal® e Milbemax®) e externos (Advantix®, Advocate® e Frontline®), e anticoncepcionais para gatos e cães (Megecat® e Pilusoft®). O farmacêutico deve ajustar a dosagem ao peso corporal e idade do animal e, explicar o modo de administração do produto.

5.5. Dispositivos médicos

Um dispositivo médico é “qualquer instrumento, aparelho, equipamento, software, material ou artigo utilizado isoladamente ou em combinação, incluindo o software destinado pelo seu fabricante a ser utilizado especificamente para fins de diagnóstico ou terapêuticos e que seja necessário para o bom funcionamento do dispositivo médico, cujo principal efeito pretendido no corpo humano não seja alcançado por meios farmacológicos, imunológicos ou metabólicos, embora a sua função possa ser apoiada por esses meios” (14).

Os dispositivos médicos subdividem-se em 4 classes, considerando o fim a que se destinam, o tempo de contacto com corpo humano, anatomia e possíveis riscos provenientes da conceção e fabrico: classe I (baixo risco); classe IIa (médio risco); classe IIb (médio risco) e classe III (alto risco).

Alguns dos dispositivos médicos que tive a oportunidade de dispensar foram: compressas, seringas, lancetas, fraldas, recipientes de colheita de amostras biológicas, ligaduras, pé elástico, testes de gravidez, preservativos, medidores de tensão, termómetros, bolsas de gel frio/quente e meias de compressão.

No contexto da pandemia causada pelo COVID-19, os dispositivos médicos que mais dispensei foram máscaras cirúrgicas e autotestes rápidos de antígeno SARS-CoV-2.

6. Cuidados de saúde prestados na Farmácia Queija

Ferreira

A proximidade e acessibilidade dos utentes à farmácia, torna os serviços farmacêuticos uma oportunidade para a promoção da saúde e do bem-estar dos utentes. Na FQF fazem parte destes serviços a determinação de parâmetros fisiológicos e bioquímicos, a administração de injetáveis e a preparação individualizada de medicamentos. Outros serviços também disponíveis são as consultas de podologia, a recolha de embalagens vazias e medicamentos fora do prazo, e entregas ao domicílio.

6.1. Determinação de parâmetros bioquímicos e fisiológicos

A determinação da pressão arterial e dos parâmetros bioquímicos (glicémia, colesterol total, triglicéridos e ácido úrico) são realizadas no gabinete de Boas Práticas da FQF, de modo a garantir a privacidade do utente e a prestar um aconselhamento personalizado.

No decorrer do estágio, realizei medições de pressão arterial, glicémia, colesterol total e triglicéridos, e auxiliei os utentes na determinação dos parâmetros antropométricos (peso, altura e índice de massa corporal).

A medição da pressão arterial é o parâmetro mais solicitado, por utentes que pretendem controlar os seus valores ou que apresentam sensação de mau estar. Para a determinação da pressão arterial, a FQF dispõe de um esfigmomanómetro digital de braço, que após um período de descanso (5 minutos) do utente, realiza 3 medições consecutivas e calcula a sua média no final. Este processo demora cerca 8 minutos, durante os quais o utente permanece sozinho no gabinete de Boas Práticas, de forma a eliminar o efeito da bata branca.

Quanto à determinação da glicemia e colesterol total, idealmente esta deve ser feita em jejum, pois o resultado é mais fiável.

6.2 Administração de medicamentos injetáveis e vacinas não incluídas no plano nacional de vacinação

Na FQF, a administração de medicamentos injetáveis e vacinas não incluídas no Plano Nacional de Vacinação (PNV) é realizada por farmacêuticos que possuem o curso de

Vacinas e Administração de Medicamentos Injetáveis da Ordem dos Farmacêuticos, no gabinete de Boas Práticas.

A administração de injetáveis é muito procurada pelos utentes da FQF, dado que está sempre disponível e não necessita de marcação prévia. Os utentes prezam este serviço farmacêutico, principalmente em contexto de pandemia, pois evita que se tenham de deslocar aos centros de saúde.

Durante o estágio, tive a oportunidade de observar a administração de Voltaren e Relmus.

6.3. Preparação individualizada da medicação

A FQF possui protocolos com residências seniores do Porto, realizando a preparação individualizada da medicação de cada utente, bem como de outros utentes que solicitem este serviço.

Para tal, a FQF possui um equipamento semiautomático. O farmacêutico insere a medicação (comprimidos e cápsulas) no equipamento, e insere a terapêutica no sistema informático. De acordo com a informação inserida no *software*, o aparelho divide a medicação para cada utente em saquetas (com a data e hora da toma).

Os objetivos deste serviço são evitar possíveis erros de administração em utentes polimedicados, aumentar a adesão terapêutica e, no caso de residências seniores, diminuir o tempo dispensado pelos enfermeiros na organização da medicação dos utentes.

6.4. Valormed

A VALORMED é uma sociedade sem fins lucrativos, responsável pela gestão dos resíduos de embalagens vazias e medicamentos fora de uso de origem doméstica. O seu objetivo é recolher e tratar de forma segura este tipo de resíduos, de modo, a evitar que sejam tratados como outros resíduos urbanos, contribuindo, assim, para a preservação do ambiente e proteção da saúde pública (15).

Os utentes podem entregar na farmácia as embalagens vazias e os medicamentos fora do prazo de validade ou de uso, onde são colocados no contentor de cartão da

VALORMED. Depois de cheio, o contentor é selado e registado no SI, para depois ser recolhido pela Alliance Healthcare.

O farmacêutico deve alertar os utentes acerca da existência da VALORMED e sensibilizá-los à sua adesão. Durante o estágio, deparei-me com uma grande adesão dos utentes a este serviço.

7. Preparação de medicamentos

7.1. Preparação de manipulados

Um medicamento manipulado é definido como “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico” (16).

Na FQF, a preparação de manipulados realiza-se no laboratório de acordo com uma receita médica ou com o Formulário Galénico Português. É necessário o preenchimento da Ficha de Preparação do manipulado, indicando as matérias-primas e o respetivo lote, as quantidades pesadas, o prazo de validade, o controlo de qualidade e o cálculo do PVP. O rótulo do manipulado deve apresentar o nome do utente e do médico prescriptor, o número do lote, o prazo de validade, as condições de armazenamento, a posologia e indicações como “uso externo” ou “agitar antes de usar”.

Durante o meu estágio tive a oportunidade de observar a preparação de uma solução de minoxidil 5% e de um xarope de trimetoprim.

7.2. Preparações extemporâneas

Existem medicamentos que devido à sua baixa estabilidade após reconstituição, apenas são preparados no ato da dispensa, são maioritariamente antibióticos de uso pediátrico. Na reconstituição é utilizada água purificada.

Ao longo do estágio realizei algumas preparações extemporâneas, entre as quais o Clamoxyl, um pó para suspensão oral, usado principalmente a nível pediátrico. Tal como os medicamentos manipulados, estas preparações realizam-se no laboratório da FQF. No momento da dispensa deste tipo de medicamentos, alertei para a importância

de agitar antes de cada toma, do modo de conservação (no frigorífico, se for o caso) e prazo de validade após reconstituição.

8. Conclusão

Ao longo do estágio na FQF, apercebi-me da proximidade existente entre o farmacêutico comunitário e a população e, do papel crucial do farmacêutico na promoção da saúde e no uso responsável e racional dos medicamentos.

Fui recebida pelo Dr. Carlos Queija Ferreira, o meu orientador de estágio, e pela equipa da FQF, uma equipa dinâmica e proativa, a quem devo o meu mais sincero obrigada por me integrarem tão bem desde o primeiro dia, por todo o conhecimento transmitido e por se mostrarem sempre disponíveis para esclarecer as minhas dúvidas.

Considero que o estágio foi muito enriquecedor a nível profissional e pessoal, no qual tive a oportunidade de aplicar os conhecimentos teórico-científicos adquiridos no Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Concluo esta etapa, com a convicção que todo o conhecimento que adquiri ao longo do estágio será crucial para o meu futuro profissional.

9. Referências bibliográficas

1. Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária (BPF). 3ª Edição, Conselho Nacional da Qualidade, 2009.
2. Portaria n.º 277/2012 de 12 de Setembro. Diário da República N.º 177– Série I. Ministério da Saúde.
3. Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de Agosto. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED.
4. Decreto-Lei n.º 171/2012, de 1 de Agosto. Diário da República N.º 148– Série I. Ministério da Saúde.
5. INFARMED: Normas Relativas à Dispensa de Medicamentos e Produtos de Saúde. Acessível em: www.infarmed.pt

6. Portaria n.º 195-D/2015, de 30 de Junho. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED
7. Decreto-Lei n.º 176/2006 de 30 de agosto. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED
8. Decreto-Lei n.º 15/93, de 22 de janeiro. Vol. 18, Diário da República n.º 18/1993, Série I-A de 1993-01-22. 1993. p. 234–52. Ministério da Justiça.
9. Despacho n.º 17690/2007, de 23 de Julho. Diário da República N.º 154- Série II. Ministério da Saúde. Lisboa
10. Decreto-Lei n.º 113/2010, de 21 de Outubro. Diário da República N.º 205- Série I. Ministério da Saúde. Lisboa
11. Decreto-Lei n.º 216/2008, de 11 de Novembro. Diário da República N.º 219- Série I.
12. Decreto-Lei n.º 136/2003, de 28 de Junho. Diário da República N.º 147- Série I-A. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas
13. Decreto-Lei n.º 314/2009, de 28 de Outubro. Diário da República N.º 209- Série I. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Lisboa
14. Decreto-Lei n.º 145/2009, de 17 de Junho. Legislação Farmacêutica Compilada. INFARMED
15. www.valormed.pt, consultado a 19 de Setembro.
16. Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho. Diário da República, 1a sérieB. 2004. Ministério da Saúde.