

**Correlação entre ApoE Sérica e o Risco de
sofrer Acidente Vascular Cerebral em Idosos
Institucionalizados na Beira Interior**

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

Júlio César Brites de Mendonça

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

Orientador: Prof. Doutor Ignácio Verde Lusquiños
Co-orientador: Dr.^a Nádía Alexandra Gomes Oliveira

outubro de 2021

Agradecimentos

Agradeço primeiramente ao projeto ICON e seus colaboradores pela oportunidade de crescimento e obtenção de conhecimento nesta fase final do meu percurso acadêmico.

Mais que o projeto em si, agradeço aos meus orientadores, incansáveis e sempre disponíveis a ajudar e me acalmar os ânimos.

O mais complexo ato de coragem é sentir medo e não deixar cair os braços. Cada dia se apresentou como uma batalha, em que a força motriz foi orgulhar quem bem me quer.

Obrigado Covilhã, obrigado UBI, porque brindaste a mim. Foram infindáveis as memórias que guardo de ti.

Obrigado a todas as aplicações de redes sociais que me mantiveram minimamente são.

Obrigado à besta. Obrigado aos gatos, que controlam a natureza. Obrigado às luzes e paredes que vibram. Obrigado ao café de baunilha. Obrigado ao nemo. Obrigado ao oito, ao 9.9 em contínua que me fez ir a outro exame, ao catoze, ao vinte, ao desistiu. Hoje não desisto mais.

Agradeço a quem sempre me apoiou, quem sempre me deu a mão, quem sempre me fez rir e acreditar que, no fundo, tudo chega a bom porto, os meus amigos, os meus não tão amigos, mas sobretudo os meus familiares.

O resto...? É para o Júlio do futuro.

Resumo

Este relatório está dividido em dois capítulos principais, retrata experiência obtida em investigação laboratorial (primeiro capítulo) e farmácia comunitária (segundo capítulo). Em relação ao primeiro capítulo, o acidente vascular cerebral (AVC) está relacionado com uma das principais causas de morte, sendo influenciado por uma combinação de vários fatores de risco. Estes incluem co-morbilidades cardiovasculares doenças metabólicas, dieta desequilibrada e estilos de vida sedentários. Embora bem descritos, por si só não conseguem caracterizar o AVC de forma precisa. Neste estudo recorreu-se à fórmula do cálculo de risco de AVC de Framingham como ferramenta preditiva do risco de doença, através dos fatores de risco modificáveis e não-modificáveis. Adicionalmente, embora a dislipidemia não seja considerada no modelo atual de Framingham, os lípidos circulantes no sangue, livres ou associados a lipoproteínas foram descritos como mediadores importantes na patofisiologia das doenças cardiovasculares e cerebrovasculares. Das estudadas, a apolipoproteína E (ApoE) desempenha um papel importante na produção de lipoproteínas plasmáticas, sua conversão e eliminação, sendo uma proteína chave no metabolismo do colesterol. Estudámos o risco de sofrer AVC em idosos da EBICohort (*Elderly of Beira Interior Cohort*), no âmbito do projeto ICON (Centro 2020; CENTRO-01-0145-FEDER-000013). Com base no cálculo de do risco de AVC de Framingham, os grupos de estudo foram divididos em: Risco normal (0-2%); Risco baixo (3-6%); Risco moderado (6-20%); Risco elevado (20%). Foram efetuadas colheitas de amostras de sangue, o soro processado e categorizado, e a ApoE foi quantificada por ELISA Sandwich. Os resultados indicam que níveis aumentados de ApoE estão relacionados com um aumento no risco de AVC. O modelo de regressão linear múltipla aplicado teve como resultado correlações significativas entre a ApoE e variáveis como a idade, género, índice de massa corporal, lipoproteína de elevada densidade e triglicéridos. O segundo capítulo descreve a experiência, valências e aprendizagem obtida em farmácia comunitária desde o dia 1 de fevereiro a 11 de junho, na Farmácia Pedroso, sob a orientação do Dr. João Vale.

Palavras-chave

Idosos, AVC, Risco de AVC de Framingham, ApoE, Farmácia Comunitária

Abstract

This document is divided in two main chapters, focusing the obtained experience in laboratory research (first chapter) and community pharmacy (second chapter). Regarding the first chapter and the title, related to one of the major causes of death worldwide, stroke is influenced by a combination of multiple risk factors. These include cardiovascular co-morbidities, metabolic diseases, unbalanced diet and sedentary lifestyles. Though well described, risk factors single-handedly cannot depict stroke stages of disease accurately. Our group recurred to Framingham Stroke Risk Score as a tool for predictive onset of disease, assessing modifiable and non-modifiable parameters and reporting a probability of having a stroke. Additionally, though dyslipidemia is not considered by Framingham latest model, circulatory lipoproteins as cholesterol and high-density lipoproteins are described as key mediators for cardiovascular disease. From the studied lipoproteins, apolipoprotein E (ApoE) plays an important role in plasmatic lipoprotein production, conversion and clearance, acting as a key protein in cholesterol metabolism. We predicted the probability of stroke onset in EBICohort (cohort of Elderly from Beira Interior), a cohort set in the scope of the ICON project (Programa Operacional do Centro, Centro 2020, CENTRO-01-0145-FEDER-000013). Based on Framingham's risk of stroke assessment the study groups were divided by: Normal (0-2%); Low (3-6%); Moderate (6-20%); High (20%). Blood samples were collected, serum was processed, categorized and APoE was quantified by Sandwich ELISA. Our results indicate that higher levels of ApoE expression are consistent with increased risk of stroke. The applied linear regression model yielded significant correlations between ApoE and variables such as age, gender, body mass index, high-density lipoprotein and triglycerides. The second chapter describes the experience, skills and learning attained in community pharmacy from 1st February to 11th June 2021 at Farmácia Pedroso, under supervision of Dr. João Vale.

Keywords

Elders, Stroke, Framingham Stroke Risk Score, ApoE, Community Pharmacy

Índice

Lista de Figuras	xiii
Lista de Tabelas	xv
Lista de Acrónimos	xvii
Capítulo 1 – Investigação	1
1. Introdução	1
1.1. Acidente Vascular Cerebral	1
1.2. Epidemiologia	1
1.3. Mecanismo Patofisiológico do AVC	4
1.4. Fatores de Risco de AVC	8
1.5. Dislipidemia ou hiperlipidemia	9
Tratamento Não Farmacológico e Farmacológico	11
1.6. Framingham Risk Score	12
1.7. Apolipoproteínas - APoE	14
2. Objetivos	16
3. Materiais e Métodos	17
3.1. Critérios de Inclusão e Exclusão	17
3.2. Seleção e Acondicionamento de Amostras	17
3.2.1. Colheita e Acondicionamento das amostras	17
3.2.2. Determinações Bioquímicas	18
3.3. ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay	18
3.3.1. ELISA Sandwich	18
3.3.1. Soluções Utilizadas	20
3.3.2. Otimização	20
3.3.3. Procedimento	21
4. Resultados	23
4.1. Cálculo de Risco de AVC de Framingham	23
4.2. Análise dos parâmetros bioquímicos de dislipidemia e Índice de Massa Corporal	24
4.3. Otimização dos Ensaios ELISA Sandwich e quantificação da ApoE	27
4.4. Modelo de regressão linear explicativo dos valores de APoE	28
5. Discussão	30

6. Conclusão	34
7. Referências Bibliográficas	35
Capítulo 2 – Estágio Curricular em Farmácia Comunitária	40
1. Introdução	40
1.1. Grupo Holon	41
2. Farmácia Pedroso	42
2.1. Local e Horário de Funcionamento	42
2.2. Espaço Exterior	42
2.3.1. BackOffice	43
2.3.2. Área de Atendimento	43
2.3.3. Gabinetes de Atendimento Personalizado	43
2.4. Equipa Técnica	44
2.5. Sistema Informático	44
2.6. Fontes de Informação	45
3. Circuito do Medicamento e Logística	46
3.1. Realização de Encomendas	46
3.2. Devoluções	47
3.3. Marcação de Preços	48
3.4. Acondicionamento	48
3.4.1. Humidade e Temperatura	49
3.4.2. Controlo de Validades e Stocks	49
3.4.3. Dispensa de Medicamentos	49
3.4.4. Prescrições Médicas	50
3.4.5. Prescrição Eletrónica	51
3.4.6. Prescrição Manual	51
3.4.7. Medicamentos Sujeitos a Receita Médica	52
3.4.8. Planos de Comparticipação	53
3.4.9. Medicamentos Sujeitos a Legislação Própria	53
3.4.10. Medicamentos Manipulados e Preparações Extemporâneas	54
3.4.11. Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM)	55
3.5 Outros produtos de saúde	56
3.5.1. Dispositivos Médicos	56
3.5.2. Dermofarmácia e Cosmética	56
3.5.3. Higiene Oral	57

3.5.4. Suplementos Alimentares e Fitoterapia	57
3.5.5. Nutrição e Alimentação Especial	58
3.5.6. Medicamentos de Uso Veterinário	58
4. Programas de Recolha	59
5. Cuidados e Serviços de Saúde Prestados	60
5.1. Serviço Check Saúde	60
5.2. Serviço Holon de Administração de Vacinas e Injetáveis	61
5.3. Serviço de Nutrição Holon	61
5.4. Serviços de Podologia e do Pé Diabético Holon	61
5.5. Serviço de Dermofarmácia Holon	62
6. Farmacovigilância	63
7. Processamento do Receituário e Faturação	64
8. Saúde na Comunidade	66
8.1. Programa de Testagem CVP – Ensino Superior	66
8.2. Rastreios J3LP	67
8.3. Avaliação do Risco Cardiovascular – Cerzir Afetos	67
8. Conclusão	68
9. Bibliografia	69
Apêndice 1 – Poster apresentado no “XVI CICS-UBI Symposium”	73

Lista de Figuras

Figura 1 - Projeção 2018-2047 da Variação Média nas Taxas Brutas de Indicadores Epidemiológicos de AVC na Europa	2
Figura 2 - Mortalidade por Doença Cardiovascular em Idades Acima de 65 Anos e 70 Anos (2009-2013)	3
Figura 3 – Doenças cerebrovasculares em idosos > 65 anos (mortes por 100 000)	3
Figura 4 - Tipos de AVC: AVC Isquémico	5
Figura 5 - AVC isquémico	6
Figura 6 – Síntese e libertação de ApoE	15
Figura 7 - Tipos de ELISA	19
Figura 8 - ELISA Sandwich	19
Figura 9 - Otimização da concentração de anticorpos	21
Figura 10 – Valores médios de colesterol total (mg/dL) nos grupos de risco de AVC	24
Figura 11 - Valores médios de colesterol-HDL (mg/dL) nos grupos de risco de AVC	25
Figura 12 - Valores médios de colesterol-LDL (mg/dL) nos grupos de risco de AVC	25
Figura 13 - Valores médios de triglicérides (mg/dL) nos grupos de risco de AVC	26
Figura 14 - Otimização da Concentração de Anticorpos	27

Lista de Tabelas

- Tabela 1 - Mortalidade por Doença Cerebrovascular em Portugal (2013): Quadro resumo de indicadores de doença cardiovascular em Portugal para o ano de 2013. 2
- Tabela 2 – Variáveis necessárias para o cálculo de risco de AVC de Framingham: Tabela com os valores de referência referentes a cada fator de risco, β 13
- Tabela 3 – Patamares em anos de sobrevivência ($S_b(t)$): Valores calculados para a probabilidade de sobrevivência sem ocorrência de AVC, em t anos, tendo em conta as médias dos fatores de risco. 13
- Tabela 4 - Determinações Bioquímicas: Informações relativas aos Kits utilizados nas determinações bioquímicas. 18
- Tabela 5 – Caracterização da População: contém as informações recolhidas e estratificação das amostras em categorias de Risco Normal, Risco Baixo, Risco Moderado e Risco Elevado com base na fórmula do cálculo de risco de AVC de Framingham. 23
- Tabela 6 – Valores médios dos níveis lipídicos (mg/dL) nos grupos de risco de AVC de Framingham. 24
- Tabela 9 - Parâmetros obtidos no modelo de apoE de regressão linear múltipla da APoE. Os preditores utilizados foram mostrados na tabela 5. 29
- Tabela 10 – Modelo de regressão lineal multivariado que compara a relação entre os níveis de ApoE (variável dependente) e os parâmetros idade, género, valor de risco de AVC de Framingham, colesterol total, HDL, triglicérideos e IMC (preditores do modelo). 29

Lista de Acrónimos

GRP	Gabinete de Relações Públicas
UBI	Universidade da Beira Interior
ApoE	Apolipoproteína E
AVC	acidente vascular cerebral
INE	Instituto Nacional de Estatística
ATP	Trifosfato de adenosina
LDL	“Low Density Lipoproteins”, Lipoproteínas de baixa densidade
VLDL	“Very Low Density Lipoproteins”, Lipoproteínas de muito baixa densidade
HDL	“High-Density Lipoproteins”, Lipoproteínas de alta densidade
ICON	Interdisciplinary Challenges On Neurodegeneration
EBIcohort	“Elderly of Beira Interior Cohort”
ELISA	“Enzyme-Linked Immunosorbent Assay”

Capítulo 1 – Investigação

1. Introdução

1.1. Acidente Vascular Cerebral

O acidente vascular cerebral (AVC) é uma das mais frequentes causas de morte a nível mundial (1,2). Esta é uma patologia com origem multifatorial, associada a comorbidades cardiovasculares, doenças metabólicas como a diabetes e dislipidemias e estilos de vida sedentários. Dentro dos fatores de risco, incluem-se fatores modificáveis, como alimentação saudável, evicção tabágica, prática de atividade física, e também fatores não modificáveis, como a idade, história familiar de doenças cardiovasculares (1,2).

Em termos patofisiológicos, um acidente vascular cerebral é resultado dum diminuição do aporte de oxigénio e nutrientes fornecidos pelo sistema circulatório ao cérebro, como consequência de uma obstrução ou rutura dos vasos sanguíneos. A falha na correta suplementação de oxigénio e nutrientes conduz a lesão neuronal que, com o decorrer do tempo, evolui e se traduz em consequências que podem ser fatais. Dependendo da região afetada podem ocorrer lesões relativas à acuidade visual, motricidade e cognição (3).

1.2. Epidemiologia

Ao nível mundial, por ano, ocorrem 15 a 17 milhões de AVC, dentro dos quais 5 a 6 milhões são mortes e 5 milhões resultam em incapacidade permanente. O AVC constituiu a segunda causa de morte em 2019 e tem sido uma das maiores causas de morte nos últimos 20 anos. Estes indicadores têm aumentado ao longo dos anos, como consequência do crescimento e envelhecimento da população à escala mundial (4,5)

De forma global, à medida que as taxas de prevalência são influenciadas pelas taxas de incidência e pela mortalidade por AVC. Assim, à medida que a incidência sobe, aumentam a prevalência e o número de casos de morte por AVC. Em contraste com estes dados, tem-se verificado desde a década de 90 um aumento na taxa de sobrevivência (4).

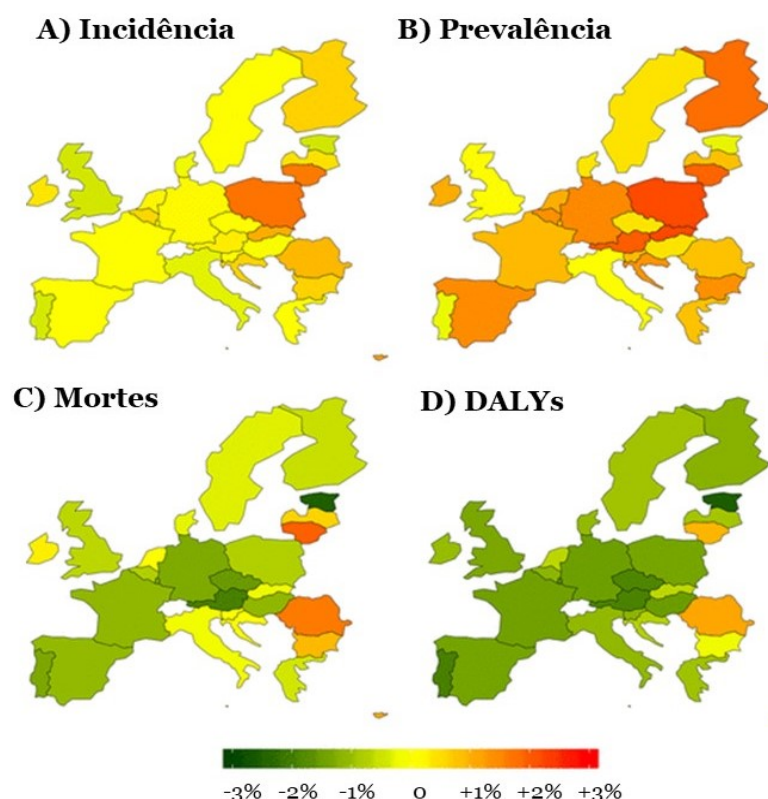


Figura 1 - Mapa representativo da variação média nas taxas brutas de indicadores epidemiológicos de AVC na Europa: A) Incidência, B) Prevalência, C) Mortes e D) DALYs (Esperança de vida corrigida pela incapacidade). Imagem adaptada de (6).

Tabela 1 - Mortalidade por Doença Cerebrovascular em Portugal em 2013: Quadro resumo de indicadores de doença cardiovascular em Portugal para o ano de 2013. Tabela adaptada de (8).

	Total	AVC hemorrágico	AVC isquémico
Número de óbitos	11 751	1773	6099
Taxa de mortalidade	118.2	17.8	61.3
Taxa de mortalidade padronizada	54.6	9.8	27.3
Taxa de mortalidade padronizada <65 anos	7.8	3.7	2.5
Taxa de mortalidade padronizada <70 anos	11.3	4.5	4.1
Taxa de mortalidade ≥65 anos	433.2	59.7	228.2
Taxa de mortalidade padronizada ≥70 anos	630.2	80.6	335.6

Relativo à realidade em Portugal, o AVC constitui a principal causa de morte. Segundo dados recolhidos pelo Instituto Nacional de Estatística (INE), em 2018 registaram-se 11235 mortes por AVC (9.9% da mortalidade). Comparativamente ao ano de 2017 (11270 mortes) verificou-se uma ligeira melhoria na mortalidade. Quanto ao género, verificou-se uma mortalidade superior em mulheres, em adição à superior esperança de vida (em média 83.9 anos para as mulheres e 79.4 anos para os homens). Já em termos de faixa

etária, registaram-se 93.2% de óbitos por doenças cardiovasculares em idades acima dos 65 anos e 82.3% em pessoas acima dos 75 anos (7).

A tabela 1 reúne informações relativas aos dados de mortalidade por doença cardiovascular em taxas por 100 000 habitantes. Nos dados, publicados pelo INE em 2015, verifica-se um aumento nas taxas de mortalidade por AVC isquémico à medida que a idade aumenta em valor absoluto. Na figura 2 também se observa que, ao longo dos anos, as taxas de mortalidade por doença cerebrovascular apresentam tendências decrescentes relevantes em idades superiores a 65 e a 70 anos (8).

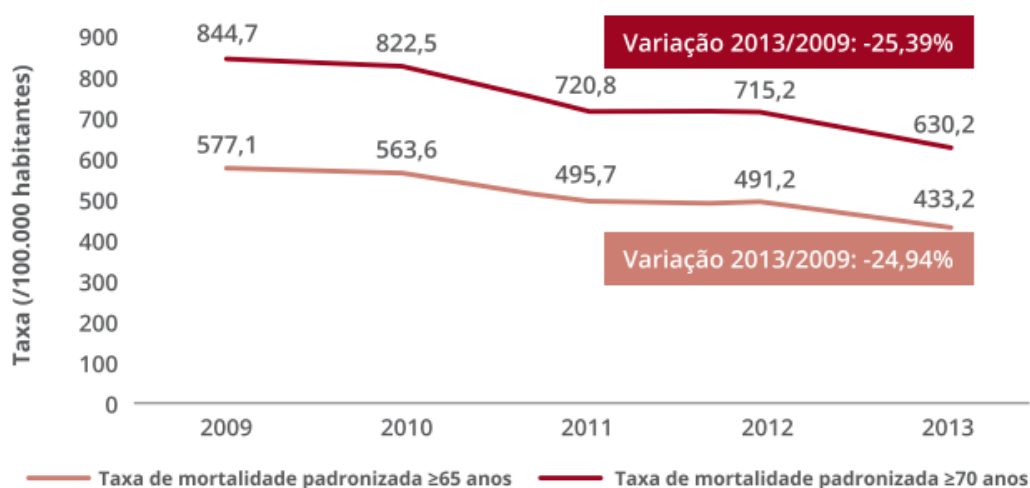


Figura 2 - Mortalidade padronizada por doenças cerebrovasculares em idades superiores a 65 e 70 anos: Gráfico representativo da tendência nas taxas de mortalidade em idosos por doenças cerebrovasculares em Portugal entre os anos de 2009 e 2013. Imagem de (8).

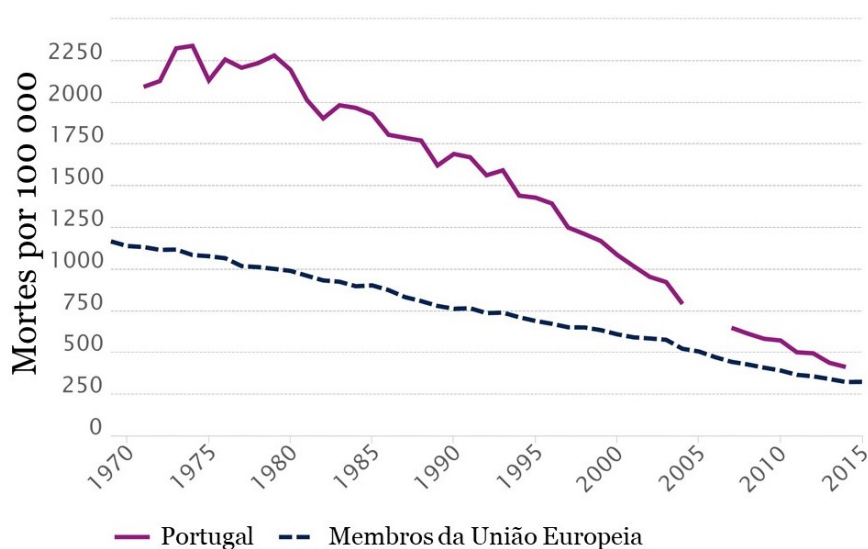


Figura 3 – Doenças cerebrovasculares em idosos > 65 anos. Dados epidemiológicos de doenças cerebrovasculares em Portugal e na União Europeia. Imagem adaptada de (9).

A figura 3 reúne dados epidemiológicos acerca do número de mortes por cem mil habitantes, provocadas por doenças cerebrovasculares, em idosos acima de 65 anos e estabelece uma comparação entre a realidade de Portugal e os restantes países membros da União Europeia. Desde 1970 tem-se verificado um decréscimo no número total de mortes por doença cerebrovascular em Portugal e na União Europeia, ao mesmo tempo que Portugal se aproxima da média Europeia. A taxa de mortes em Portugal que quase duplicava à da União Europeia em 1975, agora é quase idêntica à da União Europeia.

1.3. Mecanismo Patofisiológico do AVC

Mecanismos da circulação cerebral

O sangue é fornecido ao cérebro através das artérias carótidas (internas anteriores) e das artérias vertebrais (posteriores). Por parte das artérias anteriores é distribuído sangue ao longo das artérias cerebrais anterior (suplementa a superfície média do lobo frontal e parietal) e média (suplementa metade do tálamo, corpo estriado, parte do corpo caloso e membro anterior da cápsula interna). Sendo a artéria cerebral média uma continuação da carótida interna, êmbolos com origem na carótida interna podem-se alojar nos ramos da artéria cerebral média, ocorrendo a isquemia nessas zonas que podem conduzir a danos na motricidade fina da face e membros superiores, assim como disfunções na comunicação. O fluxo sanguíneo é controlado por mecanismos autorregulatórios que funcionam em resposta às necessidades metabólicas. Neste sentido, é mantido um fluxo constante independente da pressão arterial sistémica (dentro do limite 60-140 mmHg). Em hipertensos, este limiar aumenta. Dos fatores que afetam a circulação, os níveis aumentados dióxido de carbono e diminuídos de oxigénio, aumentam o fluxo pelas alterações nas pressões parciais de ambos. Um aumento na concentração de iões H⁺ contribui para o aumento da circulação, onde a acidose profunda extracelular conduz à estase vasomotora e a circulação cerebral pode depender da pressão arterial sistólica. Quando os mecanismos de autorregulação falham, em condições fisiológicas, a inervação simpática contrai os vasos de grande e médio calibre por forma a prevenir o dano em vasos de calibre pequeno. Estes mecanismos simpáticos podem ter influência em alguns tipos de ruturas de aneurismas (3,10).

AVC isquémico e AVC hemorrágico

O AVC pode ser dividido em AVC isquémico e AVC hemorrágico (Figura 4). O AVC isquémico, causado por uma obstrução trombótica ou embólica, divide-se em subtipos: trombose de artérias de largo calibre (por doença aterosclerótica); trombose da artéria

perfurante (AVC lacunar); por embolia cardiogénica e criptogénica; Pode ocorrer ainda AVC isquémico transitório (3,4,10,11);

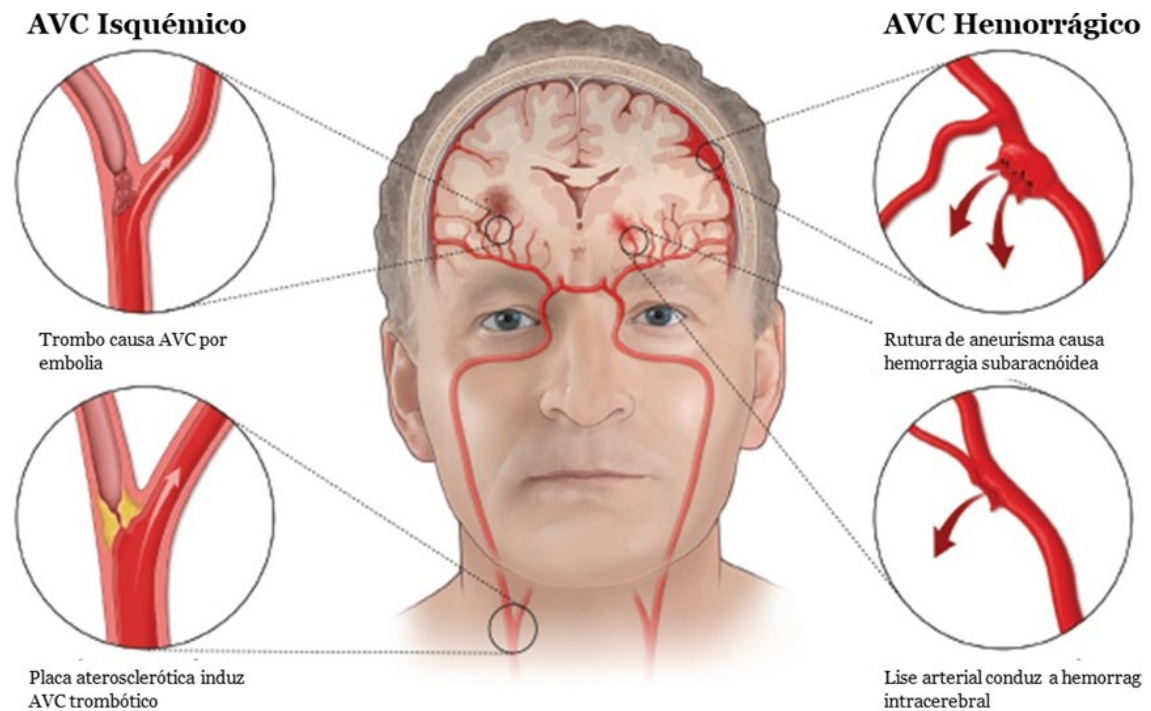


Figura 4 - Tipos de AVC: AVC Isquémico: exemplos da formação de uma obstrução no fluxo circulatório, quer por embolia, quer por formação aterosclerótica, que conduzem à hipoxia e consequente lesão cerebral (isquémia cerebral). AVC hemorrágico: caracterizado pela ruptura de vasos sanguíneos com estabelecimento de hemorragia e consequente dano cerebral. Imagem adaptada de (2).

No AVC isquémico existem duas zonas principais características da evolução da lesão: centro isquémico e penumbra. As células da penumbra (área que se pode estender num período de 4 a 6 horas) recebem uma quantidade de sangue limitada, têm as suas funções metabólicas comprometidas, mas a integridade celular mantém-se (viabilidade neuronal varia entre 24h e 17 dias). Esta zona varia ao longo do tempo e depende de cascatas bioquímicas relacionadas com o equilíbrio de iões (Ca^{2+} , Na^+ , Cl^-), o fornecimento de energia pelo trifosfato de adenosina (ATP), os fenómenos de excitotoxicidade (glutamato e outros aminoácidos excitatórios), geração e reação de espécies reativas de oxigénio.

A necrose celular que ocorre depende do tempo em que a circulação é restabelecida (reperfusão, cuja janela se pode definir 6 a 8 horas), do edema presente e dos metabolitos tóxicos acumulados, sendo que quanto mais tempo passa, mais produtos tóxicos são libertados causando a morte celular e crescimento da área cerebral afetada com danos irreversíveis (Figura 5) (10,12–14).

AVC isquêmico transitório

Surgem como perturbações temporárias no fluxo sanguíneo que reverte sem que se estabeleça lesão. As causas são as mesmas do AVC isquêmicos em que ocorrem alterações com origem em aterosclerose e embolia. Este tipo de AVC é relevante, como preditivo de AVC, na medida em que existe um risco acrescido de AVC precoce (50% ocorre nas primeiras 48h) (10).

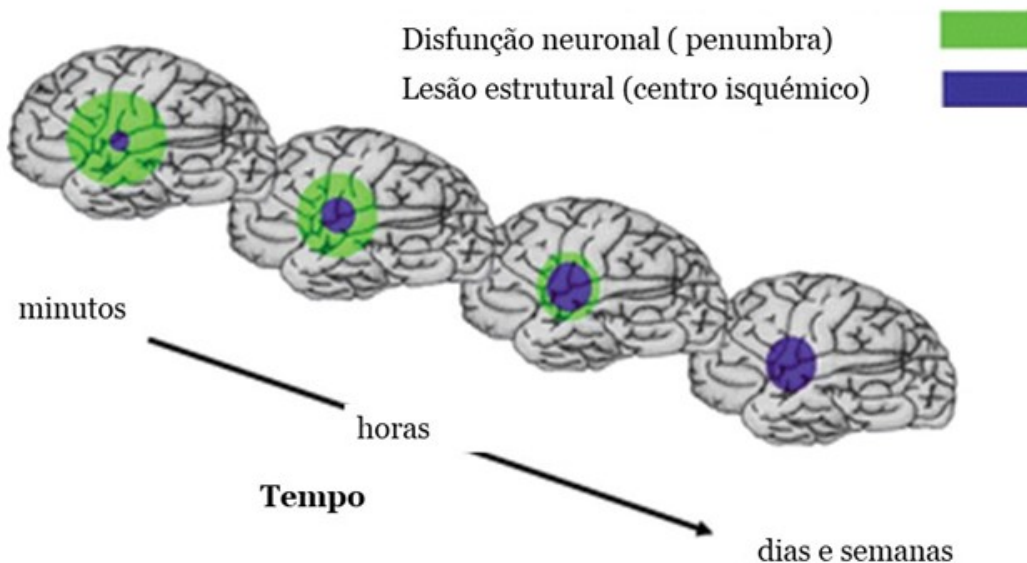


Figura 5 - AVC isquêmico: Imagem representativa da evolução da lesão resultante de um AVC isquêmico. Nos primeiros minutos existe uma distinção entre o centro isquêmico (onde ocorre rápida necrose) e resultante penumbra característica da depleção de oxigênio e nutrientes. A rápida reperusão sanguínea previne o aumento do centro isquêmico à medida que a zona de penumbra se reduz por meios de mecanismos de endógenos onde o dano neuronal ainda é reversível. Imagem adaptada de (17).

AVC isquêmico trombótico

Este é o tipo mais comum dentro dos AVC isquêmicos, em que os trombos ocorrem em vasos que contêm placas ateroscleróticas. Estas podem estar presentes na carótida interna, artérias vertebrais, e junções das artérias vertebral e basilar. A formação aterosclerótica pode dar origem oclusão local ou distal com consequências na suplementação ao córtex. É comum em idosos, com coração aterosclerótico ou com doença arterial periférica (3,10).

AVC isquêmico embólico

Com origem num coágulo que está em circulação, afeta principalmente os vasos proximais, alojando-se nas bifurcações dos ramos das artérias de maior calibre (por

exemplo, artéria cerebral média). Os coágulos em circulação atingem vasos de menor calibre e, não sendo possível a sua passagem, bloqueiam a circulação sanguínea e provocam danos imediatos. Podem ter origem trombótica ventricular esquerda, origem em placas ateroscleróticas nas carótidas. Ocorrem rapidamente como consequência de afecções cardíacas agudas (por exemplo fibrilação auricular, enfarte agudo do miocárdio) (3,10).

AVC lacunar

Caracterizados por serem muito pequenos a pequenos tipos de lesão (menos de 15 mm). Estas podem surgir ao nível da cápsula interna, tronco cerebral ou gânglios basais. Neste tipo pode ocorrer lipo-hialinose, onde há degeneração da camada média de arteríolas por substituição de lípidos e colagénio, resultando em estenose. O AVC lacunar pode ser causado como resultado de microembolia, necrose secundária a hipertensão, vasospasmo ou angiopatia amiloide. Dado o seu tamanho não costumam produzir défices corticais relacionados com afasia ou apraxia, mas sim manifestações descritas como “síndromes lacunares” como, por exemplo, hemiplegia motora (3,10,15).

AVC Hemorrágico

O AVC hemorrágico surge quando ocorre a rutura de um vaso sanguíneo, podendo ser subdividido em AVC hemorrágico intracerebral (ao nível do parênquima cerebral) e AVC hemorrágico subaracnoide (espaço subaracnoídeo). Os AVC do tipo hemorrágico são os mais fatais de entre os tipos de AVC, onde o derrame exerce pressão excessiva resulta em manifestações clínicas tais como vômitos, dor de cabeça aguda, convulsões, coma e morte. Apenas um terço da população que sofre AVC hemorrágico recupera sem sofrer consequências graves. A hemorragia dá-se comumente nos gânglios basais, lobos cerebrais, tálamo, ponte e tronco cerebral. O AVC hemorrágico pode resultar em hematoma focal, edema, compressão cerebral e espasmo dos vasos sanguíneos, assim como expansão do derrame a áreas mais distantes. As causas são trauma, erosão tumoral, desordens da coagulação, aneurisma. Os aneurismas surgem pelo relaxamento muscular das paredes dos vasos, podem ocorrer na circulação anterior e são frequentemente encontrados em bifurcações e junções tais como as encontradas no polígono de Willis. A probabilidade de rutura de um aneurisma com consequente hemorragia aumenta quanto maior for o seu tamanho. Outras causas do surgimento de aneurismas são hipertensão, aterosclerose e infeções bacterianas (10,16).

Tratamento

De forma a salvaguardar a sobrevivência e minimização do dano do tecido cerebral, assim como prevenir AVC secundários, os doentes devem ser encaminhados às unidades de saúde especializadas mais próximas, ser o mais rápido possível avaliados quanto aos sinais de AVC (dificuldade em falar, boca ao lado, falta de força num membro) e ser encaminhados às unidades de saúde, recorrer a medidas de reperfusão e estratégias de neuroprotecção nos cuidados primários do AVC. A recorrência de AVC é elevada durante a primeira semana após AVC ou AVC isquémico transitório. Da terapêutica farmacológica que pode ser instituída inclui-se, por exemplo, a terapêutica fibrinolítica e, neste sentido, agentes anti-plaquetários ou anticoagulantes é fundamental. Para casos que necessitem medidas cirúrgicas institui-se terapêutica endovascular. A longo prazo, a prevenção de AVC acontece pelo controlo de fatores de risco como a hipertensão, diabetes, consumo de tabaco e hiperlipidemia (10,18).

1.4. Fatores de Risco de AVC

Relativo a fatores de risco, dos identificados, há um peso de mais de 90% no total de AVCs. Estes incluem hipertensão, consumo de álcool excessivo, ser fumador, consumo de uma dieta inadequada, insuficiente atividade física, ter diabetes mellitus, fatores sociais, ser portador ou ter história familiar de doenças cardiovasculares (19,20)

Dentro dos diferentes fatores de risco, a hipertensão é dos fatores de risco modificáveis com maior peso. Fatores genéticos ou estilos de vida são a origem primária do estabelecimento de hipertensão (90 a 95% das vezes). Quanto às restantes causas secundárias de hipertensão incluem-se hipertensão provocada por patologias como a estenose da artéria renal, tumores endócrinos ou efeitos adversos de fármacos (19,21).

Fumadores têm o risco de AVC duplicado, associado à carga tabágica numa relação dose-resposta aparente e os não fumadores expostos ao fumo do tabaco têm o risco de AVC aumentado em 30% (22,23).

Em relação ao metabolismo dos lípidos, as doenças metabólicas como a dislipidemia, em particular hiperlipidemia estão um fator de risco considerado, sendo relevante o controlo dos níveis de colesterol total, colesterol-LDL e colesterol-HDL. Estudos provaram o decréscimo em eventos vasculares e mortes em doentes tratados com estatinas com o objetivo de diminuir os níveis de colesterol-LDL (3,22,24–26).

Em termos de prevenção do estabelecimento do AVC, existem normas orientadoras por níveis de prevenção primária e secundária como estratégia de prevenção (19).

- Prevenção Primária:
 - Cessação tabágica;
 - Prática regular de atividade física, pelo menos 30 minutos;
 - Restrição de consumo de sal (<5g de sal) e promoção do consumo de frutas e vegetais (pelo menos 400g por dia);
 - Farmacoterapia de manutenção (salicilatos, anti-hipertensivos, estatinas) em doentes com risco de doença cardiovascular >30% ao longo de 10 anos;
 - Anti-hipertensivos em doentes com hipertensão arterial e risco de doença cardiovascular >20% que não consigam uma redução na pressão arterial através das modificações de estilos de vida.

- Prevenção Secundária:
 - Cessação tabágica, dieta saudável e atividade física frequente;
 - Farmacoterapia com salicilatos, anti-hipertensivos e estatinas.

1.5. Dislipidémia ou hiperlipidémia

Dislipidemias ou hiperlipidemias são distúrbios lipídicos do sangue caracterizados por níveis elevados de colesterol e/ou níveis aumentados de triglicéridos em sangue. Na realidade, estas patologias também podem envolver níveis muito baixos de colesterol-HDL ou de apolipoproteínas, razão pela qual alguns autores consideram mais adequado o termo dislipidemia. A classificação de hiperlipidémia baseia-se no tipo de lipoproteínas envolvidas e é influenciada de fatores relacionados com a genética, nutrição, medicação e comorbilidades. Muitos casos de colesterol elevado estão relacionados com o colesterol obtido na dieta, ao passo que outras apresentam níveis alterados na síntese de colesterol ou das de apolipoproteínas constituintes das lipoproteínas. (25,27,28)

Os lípidos circulam na corrente sanguínea ligados a lipoproteínas e exercem funções energéticas, estruturais e fisiológicas fundamentais ao organismo. As lipoproteínas podem ser classificadas em quanto ao seu tamanho, densidade e solubilidade, havendo quilomicrons, lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), lipoproteínas de densidade intermédia (IDL), lipoproteínas de densidade baixa (LDL) e lipoproteínas de densidade alta (HDL). Níveis elevados de lípidos como consequência de hiperlipidémia

conduzem a um risco aumentado de desenvolver aterosclerose e, conseqüentemente, um risco aumentado de sofrer AVC (29).

Neste sentido, a dislipidemia é uma condição em que os níveis de lípidos sanguíneos se encontram desregulados. Dentro da classificação de dislipidemia podemos subdividir a mesma em primária (como por exemplo, hiperlipidemia de origem familiar) e secundária (como consequência de diabetes, hipotireoidismo, doenças hepáticas e/ou renais) (29).

Relativo aos sinais e sintomas, a dislipidemia frequentemente não está associada a quaisquer manifestações, até que se estabelece um quadro sintomático mais grave muito tempo depois, em que já existe uma doença em estado avançado. Tais manifestações incluem, por exemplo, dificuldades na marcha, opacificações na córnea, perda de equilíbrio e confusão, e em casos mais graves eventos como o insuficiência cardíaca, enfarte ou AVC (30).

Para efeitos de monitorização das dislipidemias, é necessário obter-se um perfil lipídico através da quantificação das lipoproteínas circulantes: colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL e triglicéridos (29,31,32).

O colesterol é transportado pelas lipoproteínas mencionadas e pode ser obtido através da dieta e/ou ser sintetizado de forma endógena. Dos valores de referência em jejum, o colesterol total superior a 200 mg/dL e o colesterol-LDL acima de 130 mg/dL são considerados valores não fisiológicos ou elevados, sendo que podem provocar patologias diversas (31).

Em contraste com as outras lipoproteínas, os níveis de colesterol-HDL estão relacionados como sendo fator protetor contra doenças cardiovasculares, pois as HDL são lipoproteínas que retiram o colesterol circulante para transporta-lo ao fígado e ser metabolizado, provocando, assim, a diminuição em sangue. Neste sentido, o aumento em 10% dos níveis de HDL é uma das estratégias no tratamento das dislipidemias (25,32).

As lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) transportam principalmente triglicérides, mas também colesterol, sendo o transporte realizado entre o fígado e outros tecidos. Consideram-se valores elevados de triglicéridos os que ultrapassem 2.3 mmol/L (200 mg/dL). O ajuste nos níveis de triglicéridos constituem a segunda linha nos objetivos terapêuticos no tratamento de dislipidemias (25,29,31,32). Ocorre que quando as VLDL deixam uma parte de triglicérides e também de colesterol nos tecidos, convertem-se em LDL.

As LDL são lipoproteínas também são responsáveis do transporte de colesterol, neste caso entre os tecidos, incluindo o fígado. A maioria dos tecidos o utilizam o colesterol, e o fígado vai metaboliza-lo, mas quando há demasiado colesterol ocorrem níveis elevados de colesterol total e de colesterol-LDL em sangue, e provoca o depósito do colesterol nas paredes arteriais (31). Assim, esta é uma das lipoproteínas envolvidas no risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. As modificações na dieta podem contribuir 5-15% na diminuição dos níveis totais de colesterol-LDL (25).

A equação de Fredewald ($LDL = \text{colesterol total} - HDL - (\text{triglicéridos}/5)$) é comumente utilizada para estimar a concentração de LDL. Quanto aos valores de concentração, o valor ótimo de colesterol LDL deve ser inferior a 100 mg/dL, o limite intermédio entre 100-129 mg/dL, o limite alto 130-159 mg/dL, e considera-se alto 160-189 mg/dL e muito alto acima de 190 mg/dL (29).

Tratamento Não Farmacológico e Farmacológico

O tratamento não farmacológico para as dislipidemias é a primeira linha, motivando o doente a alterações de estilos de vida, pelo estabelecimento de uma alimentação saudável (por exemplo, dieta mediterrânica) e prática de exercício físico (32).

O tratamento farmacológico das dislipidemias inclui fármacos cujo mecanismo de ação atua ao nível do metabolismo das moléculas lipídicas, quer seja na síntese de colesterol, quer seja na sua absorção (32).

- **Estatinas:** inibição da HMG-CoA redutase, induz a expressão de recetores LDL e promove a eliminação de LDL da corrente sanguínea. (exemplo: atorvastatina). Os diferentes perfis de metabolização de cada uma das diferentes estatinas facilita a gestão da terapêutica, evitando possíveis efeitos adversos relacionados com o medicamento e é possível alcançar uma diminuição 22-63% dos níveis de LDL;
- **Sequestradores de ácidos biliares:** resinas sequestradoras que atuam ao nível da inibição da reabsorção de ácido biliar sintetizado a partir de colesterol (exemplo: colestipol, colestiramina). Estas são a primeira linha na redução do colesterol em crianças e mulheres que pretendam engravidar. Pode diminuir os níveis de LDL em 10-15% ao mesmo tempo que aumenta os níveis de triglicérideos;

- **Fibratos:** atuam na redução da síntese da VLDL e da lipoproteína lípase (exemplo: gemfibrozil, fenofibrato). Estes são os mais potentes na redução dos níveis de triglicerídeos, 50% ou mais, e promove um aumento nos níveis de HDL em 15%. A sua influência nos níveis de LDL não é bem estabelecida e devem ser usados com precaução em associação com estatinas.
- **Ezetimiba:** inibe a absorção de colesterol ao nível do trato gastrointestinal, induz uma redução nos níveis de LDL (18%) e triglicéridos (8%). A sua combinação com as estatinas promove diminuição dos níveis de LDL, colesterol e triglicéridos e aumenta os níveis de HDL.

1.6. Framingham Risk Score

A escala de Framingham é caracterizada por uma fórmula que inclui seis fatores de risco. Dos fatores de risco tidos em conta incluem-se fatores modificáveis e não modificáveis tais como idade, género, pressão arterial sistólica e hábitos tabágicos. O cálculo segundo a escala de Framingham divide a população em grupos de risco de sofrer AVC, sob a forma de uma probabilidade ao longo de um período de 10anos. A fórmula de cálculo foi primeiramente descrita em 1991 e tem sofrido alterações ao nível dos fatores de risco que são tidos em conta, tendo sido retirado, por exemplo, hipertrofia ventricular esquerda (33,34). Para efeitos clínicos, resultam informações úteis para a monitorização da população, quer em termos de verificação de estilos de vida, quer no acompanhamento da terapêutica farmacológica estar a produzir efeitos benéficos na prevenção e terapêutica de doenças cardiovasculares (35).

Para a avaliação do risco pela fórmula de Framingham, cada fator de risco (idade, pressão arterial sistólica, terapêutica anti-hipertensiva, diabetes mellitus, ser fumador, histórico de doença cardiovascular, fibrilação auricular) é listado e o cálculo pode ser efetuado numa escala de pontos. O cálculo tem por base um modelo de risco proporcional de Cox, uma função linear onde cada fator de risco identificado é multiplicado ao seu coeficiente β (que expressa a contribuição individual de risco de doença), onde o somatório é expresso numa função L . Desta função L é subtraído o somatório dos valores médios significativos de cada um dos fatores de risco multiplicados pelos seus coeficientes, dado por $M = \sum(\beta_i X_i)$ (valores M de referência onde, por exemplo, para um homem se considera fator de risco significativo ter em média 65.4 anos e uma pressão arterial sistólica em média 139.4 mmHg). A função M é análoga à função L , mas tem em conta a média de todas as variáveis do modelo. O valor $S_b(t)$ expressa a probabilidade de sobrevivência (não ocorrência de AVC), num intervalo de tempo t , que se inclua na escala

de 1 a 10 anos e controla os efeitos da contribuição dos fatores de risco no modelo de Framingham (33,34).

Tabela 2 – Variáveis necessárias para o cálculo de risco de AVC de Framingham: Tabela com os valores de referência referentes a cada fator de risco, β

	Homens		Mulheres	
	β	Média	β	Média
Idade dividida por 10 anos	0.4971	6.67535	0.87938	6.78703
Fumador	0.4725	0.1244	0.51127	0.13843
Doença cardiovascular	0.4534	0.17983	-0.03035	0.10068
Fibrilação auricular	0.0806	0.07071	1.20720	0.03200
Idade ≥ 65 anos	0.45452	0.52291	0.39796	0.56814
Diabetes, se idade < 65 anos	1.3530	0.0584	1.07111	0.03200
Diabetes, se idade ≥ 65 anos	0.3438	0.0921	0.06565	0.05645
Terapia anti-hipertensiva	0.8259	0.42121	0.13085	0.39698
Pressão arterial sistólica, divida por 10, se sem terapia anti-hipertensiva	0.2732	0.66560	0.11303	0.57062
Pressão arterial sistólica, divida por 10, se terapia anti-hipertensiva	0.0979	0.81527	0.17234	0.93887
$M = \sum(\beta_i X_i)$, avaliado ao nível das médias dos fatores de risco		4.42271		6.61707

Tabela 3 – Patamares em anos de sobrevivência ($S_b(t)$): Valores calculados para a probabilidade de sobrevivência sem ocorrência de AVC, em t anos, tendo em conta as médias dos fatores de risco. Adaptado de (34).

t (anos)	$S_b(t)$	
	Homens	Mulheres
1	0.99598	0.99901
2	0.99478	0.99697
3	0.98919	0.99424
4	0.98531	0.99074
5	0.98059	0.98710
6	0.97661	0.98327
7	0.96983	0.97890
8	0.96179	0.97326
9	0.95509	0.96581
10	0.94451	0.95911

Assim, a expressão geral para a fórmula de Framingham é dada por:

$$\text{Risco de AVC de Framingham (t)} = 1 - (\text{S}_b(\text{t}))^{\exp(\text{L}-\text{M})}$$

A função linear **L** é dada pela expressão:

$$\begin{aligned} \text{L} = & \beta_{\text{idade}} \times (\text{idade}/10) + \beta_{\text{fumador}} \text{ (se for fumador)} + \beta_{\text{doença cardiovascular}} \text{ (se doença} \\ & \text{cardiovascular)} + \beta_{\text{fibrilação auricular}} \text{ (se fibrilação auricular)} + \beta_{\text{idade} \geq 65} \text{ (se idade} \geq 65) + \\ & \beta_{\text{diabetes e} < 65 \text{ anos}} \text{ (se idade} < 65 \text{ e tem diabetes)} + \beta_{\text{diabetes e} \geq 65 \text{ anos}} \text{ (se idade} \geq 65 \text{ e tem} \\ & \text{diabetes)} + \beta_{\text{terapia anti-hipertensiva}} \text{ (se terapia anti-hipertensiva)} + \beta_{\text{pressão arterial sistólica sem terapia}} \\ & \text{anti-hipertensiva} \times (\text{PAS}-120)/10 \text{ (se não está em terapia anti-hipertensiva)} + \beta_{\text{pressão arterial sistólica}} \\ & \text{se terapia anti-hipertensiva} \times (\text{PAS}-120)/10 \text{ (se está em terapia anti-hipertensiva)}. \end{aligned}$$

Os valores de cada coeficiente estão contemplados na Tabela 2, discriminando o género.

1.7. Apolipoproteínas - APoE

As apolipoproteínas são proteínas que se associam aos lípidos, aquando da sua síntese (retículo endoplasmático do fígado ou das células intestinais) ou durante a circulação na corrente sanguínea. Como anteriormente referido, têm papéis importantes no metabolismo e transporte de lípidos através das membranas e fluídos biológicos. Dentro dos diferentes tipos, são divididas consoante o seu tamanho, solubilidade e polimorfismo. As de maiores dimensões (como é o caso da ApoB 100 e ApoB48) são de grandes dimensões, insolúveis, e permanecem ligadas aos lípidos associados desde a síntese à sua eliminação. Já as de menores dimensões (ApoA1, ApoA2, ApoC e ApoE) apresentam algum grau de solubilidade aquosa e podem interagir com as lipoproteínas em circulação (27).

As apolipoproteínas também atuam ao nível do reconhecimento de recetores, permitindo que las lipoproteínas se liguem às células que possuem recetores e, assim, permitir trocas de lípidos e internalização das lipoproteínas. Um exemplo são as interações entre a ApoB 100 e ApoE com recetores de LDL. As ApoB 100 e ApoB48 circulam como principais componentes de VLDL e LDL, assim como de lipoproteína A. Relativamente a um dos recetores de HDL, estão documentadas interações com ApoA1, ApoA2, ApoB 100 (27).

Em termos estruturais, estão documentados seis polimorfismos proteicos da ApoE. Na ApoE humana, esses polimorfismos estão explicados pelas três isoformas da ApoE (ApoE2, ApoE3 e ApoE4). Constituídas por 299 aminoácidos, as diferentes isoformas distinguem-se pela substituição em duas localizações (ApoE2: Cys112 e Cys158; ApoE3:

Cys112 e Arg158; APoE4: Arg112 e Arg158). Os outros três polimorfismos ocorrem pela sialilação na Thr194. Após esta caracterização foi descoberto o recetor para a ApoE, o LDLR (recetor de lipoproteína de baixa densidade). Como resultado da clivagem trombolítica da ApoE, a ligação entre a ApoE e o LDLR ocorre ao nível do domínio N-terminal, com fraca interação com lípidos, e o domínio C-terminal é o que se liga à superfície de lipoproteínas e não está envolvido na afinidade ApoE-LDLR (36).

Além destas interações com lipoproteínas e de poderem atuar como moduladoras de atividade enzimática, estudos indicam que as apolipoproteínas estão envolvidas na neurogênese, formação de placas na doença de Alzheimer e processos de coagulação. A par destas alegações, a ApoE tem sido associada ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, doenças metabólicas e doenças neurodegenerativas (27,28,37,38).

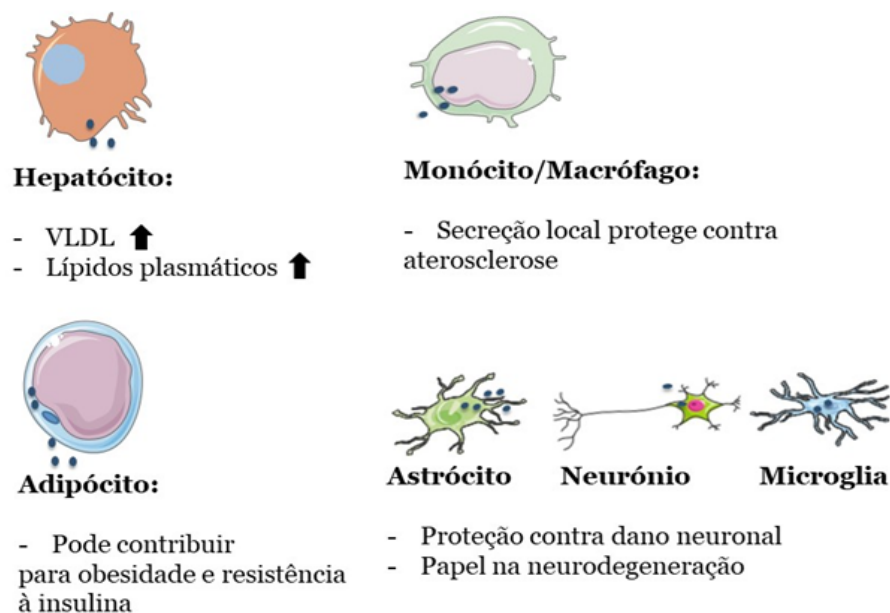


Figura 6 – Funções descritas para ApoE: Em adipócitos, promove a captação de lípidos e ácidos gordos. Ao nível do sistema nervoso central, a síntese por astrócitos regula o transporte de lípidos para o sistema nervoso central. Astrócitos, neurónios e microglia apresentam níveis aumentados na expressão de ApoE após lesão ou mecanismos de neuroprotecção. Imagem adaptada de (37).

A ApoE regula o metabolismo lipídico, mediando o transporte entre tecidos e células. Em tecidos periféricos, é produzida a nível hepático e atua no metabolismo de colesterol, estando as suas isoformas associadas a hiperlipidémia, hipercolesterolemia, conseqüente aterosclerose, doença cardíaca congestiva e AVC. Estudos indicam que a APoE4 como fator de risco é independente de outros fatores de risco vasculares, tais como hipertensão ou dislipidemia, assim como está associada a mau prognóstico após hemorragia subaracnoídea e disfunções neurovasculares (39).

2. Objetivos

Atendendo à urgência em diminuir a mortalidade e morbidade associadas ao AVC isquémico, este estudo tem como principal objetivo perceber se a APoE, como proteína que participa no transporte dos lípidos, poderá estar associada ao risco de ocorrência deste evento cerebrovascular, em idosos da EBICohort (*Elderly of Beira Interior Cohort*). Assim, os objetivos específicos são:

1. Reunir todas as informações clínicas e não clínicas relevantes sobre cada participante (sexo, idade, escolaridade, pressão arterial sistólica, historial clínico de doenças e esquemas terapêuticos);
2. Aplicar a fórmula revista de risco de AVC de Framingham, a fim de constituir quatro grupos de estudo de idosos, nomeadamente: risco normal (<2%, grupo controlo), risco baixo (2-6%), risco moderado (6-20%) e risco elevado (>20%);
3. Determinar o perfil lipídico em amostras de soro, através de métodos analíticos padrão;
4. Quantificar ApoE, em amostras de soro, através da técnica ELISA Sandwich;
5. Analisar e comparar os diferentes perfis lipídicos dos idosos em grupos de trabalho;
6. Analisar a relação entre os níveis de ApoE encontrados e o género, idade, perfil lipídico e outros parâmetros clínicos.

3. Materiais e Métodos

3.1. Critérios de Inclusão e Exclusão

Este estudo tem por base dados e amostras biológicas recolhidas da EBIconhort (“Elderly of Beira Interior Cohort”), no âmbito do projeto ICON (Interdisciplinary Challenges On Neurodegeneration; CENTRO-01-0145-FEDER-000013). Todos os procedimentos relacionados com a recolha de amostras, informação e análise dos dados foram aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade da Beira Interior no âmbito do citado projeto.

Da coorte inicial, para o presente estudo foram incluídos idosos que contemplassem os seguintes critérios de inclusão e exclusão:

- Ter idade igual ou superior a 65 anos;
- Ter lido, compreendido e assinado o consentimento informado de acordo com o documento aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade da Beira Interior no âmbito do projeto ICON;
- Não apresentar diagnóstico de distúrbios psiquiátricos;
- Não apresentar diagnóstico de doenças neurodegenerativas (como por exemplo Doença de Alzheimer e Parkinson);
- Não apresentar neoplasias ou cancro diagnosticado;
- Não estar em farmacoterapia agressiva constituída por neurolépticos, antiepiléticos, antirretrovirais, antidemenciais;
- Ter disponível toda a informação clínica e pessoal, necessária à aplicação do cálculo de risco de AVC de Framingham;
- Ter disponível amostra de sangue para obtenção de soro.

3.2. Seleção e Acondicionamento de Amostras

3.2.1. Colheita e Acondicionamento das amostras

Foram realizadas colheitas nas instituições seguindo protocolos de colheita apropriados a cada fluido biológico de interesse. Para o soro, em cada colheita o sangue era armazenado em tubos ativadores da coagulação, a 4°C, durante 2h.

Após este período era centrifugado a 1500g, durante 15 min, a 4°C. Por fim eram recolhidos 400 µL para 4 criotubos. Cada uma das amostras foi devidamente codificada, inserindo-se os dados numa base de dados e preservando as amostras ordenadamente a -80°C.

3.2.2. Determinações Bioquímicas

As amostras de sangue a partir das quais foram efetuadas as quantificações séricas de glicose, colesterol total, colesterol-HDL e triglicéridos foram recolhidas e doseadas por investigadores especializados que participavam no projeto ICON. De forma a quantificar os parâmetros bioquímicos de interesse de forma reprodutível foram utilizados Kits em concordância com o indicado na tabela 4.

Tabela 4 - Determinações bioquímicas: Informações relativas aos Kits utilizados nas determinações bioquímicas.

Kit	Método	Código
Glicose	Glicose oxidase/peroxidase	Byosystems COD 11503
Colesterol Total	Colesterol oxidase/peroxidase	Byosystems COD 11505
HDL	Direto detergente	Byosystems COD 11557
Triglicerídeos	Glicerol fosfato oxidase/peroxidase	Byosystems COD 11528

3.3. ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

3.3.1. ELISA Sandwich

A técnica ELISA foi descrita pela primeira vez em 1971 por Engvall e Perlmann. Esta permite a quantificação e a deteção de proteínas presentes em amostras simples ou em matrizes complexas de uma forma sensível e específica. O fundamento da técnica passa pela ligação dos analitos a anticorpos específicos e posterior leitura do sinal obtido em função da concentração da solução em análise. Adicionalmente, através desta técnica é possível essa mesma caracterização através de pequenos volumes de amostra (na ordem dos 50-100 µL) que podem ser analisados em microplacas de 96 poços (40–42).

Os ensaios ELISA são utilizados com frequência como ferramenta de diagnóstico clínico, em investigação fundamental ou aplicada, assim como são úteis ao nível industrial (40–42).

Dos tipos existentes, podemos destacar ELISA direta, indireta, Sandwich e por competição, tal como exemplificado na Figura 7 (40–42).

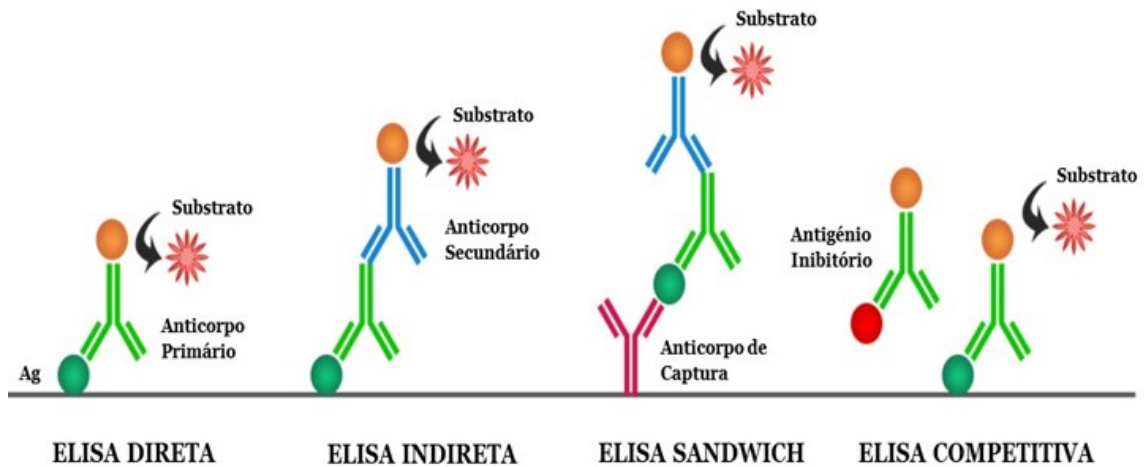


Figura 7 - Tipos de ELISA: a) ELISA direta - Antígeno na placa, apenas ocorre reação com Anticorpo primário; b) ELISA indireta - Detecção ocorre através do anticorpo secundário; c) ELISA sandwich - Anticorpo primário é fixado na placa, juntamente com o antígeno alvo, é adicionado anticorpo secundário de detecção; d) ELISA competitiva - é adicionado antígeno semelhante ao que se procura na amostra, ocorre reação por competição em que um baixo sinal indica uma grande concentração de antígeno. Adaptado de (41).

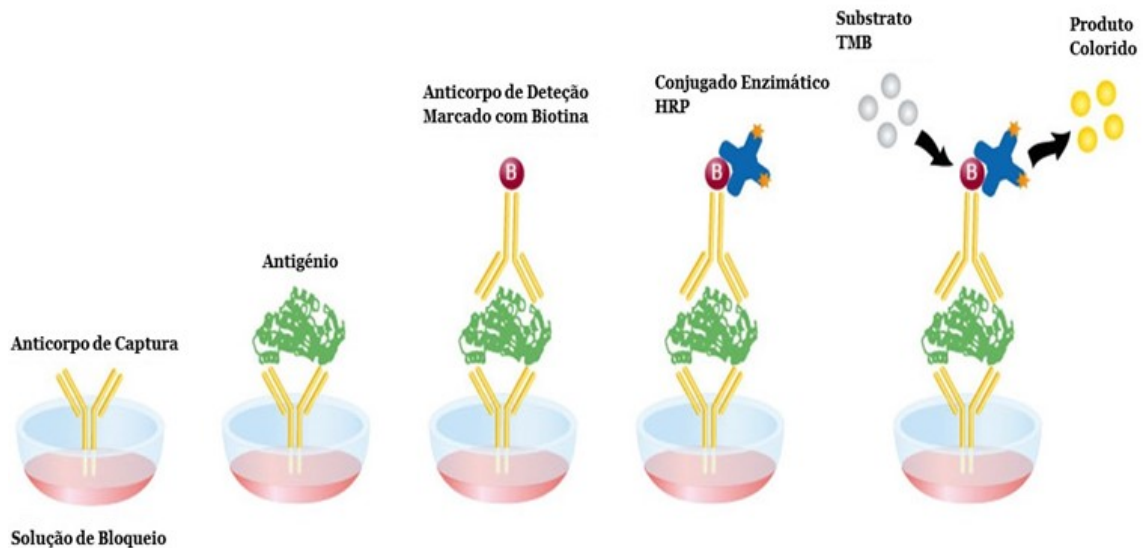


Figura 8 - ELISA Sandwich: Esquema representativo da técnica de ELISA do tipo Sandwich. A) Fixação do anticorpo primário à placa; B) Adição de antígeno/proteína recombinante (no caso das curvas padrão); C) Adição do anticorpo secundário marcado com biotina; D) Adição de conjugado enzimático HRP (*Horseradish Peroxidase*); E) Fase de geração de sinal e detecção por intermédio da adição de substrato TMB (3,3',5,5'-Tetrametilbenzidina) onde, ao reagir com o complexo enzimático vai constituir uma solução colorida; F) A geração de sinal é medida no espectrofotómetro com leitor de microplacas e a concentração de antígeno é calculada com base na curva padrão (Adaptado de (40)).

O ensaio ELISA Sandwich tem elevada especificidade, está otimizado para detecção de proteínas em amostras complexas, não sendo necessária uma purificação prévia para proceder às análises. Além dessas vantagens podem-se recorrer a métodos diretos ou indiretos de detecção (41).

3.3.1. Soluções Utilizadas

Coating buffer: 0,2M carbonato/bicarbonato de sódio, pH 9.4 (500 mL)

- Bicarbonato de potássio;
- Carbonato de sódio anidro.

Wash buffer: PBS com 0.05% tween 20, pH 7.2 (1 L)

- PBS 1x a partir de PBS 10x;
- 500 uL tween 20.

Blocking buffer/diluyente standard: 2% (m/v) BSA em *Wash buffer* (100 ml)

- Preparado a partir da solução *Wash buffer*, adicionando-se 2g de BSA.

Solução STOP: ácido sulfúrico 2M (100 ml)

3.3.2. Otimização

Para procedermos a uma correta quantificação das amostras em estudo, assim como para rentabilizar a quantidade de anticorpo disponível, procedemos a otimizações das concentrações de anticorpo primário e secundário que iríamos utilizar nos nossos ensaios, de acordo com as fichas técnicas dos kits e as recomendações dos comercializadores dos anticorpos. Assim, como forma de agilizar o processo, utilizou-se um método capaz de determinar simultaneamente os diferentes sinais obtidos nas quantificações de acordo com uma escala de diluição de concentrações conhecidas.

Através da seleção de volumes adequados (50-100µL por poço), e com base em soluções-concentradas que sofreram subseqüentes diluições, ao otimizar a quantidade de anticorpo primário e secundário conseguimos também avaliar a reprodutibilidade dos nossos ensaios e testar se todas as condições estavam reunidas para proceder com o estudo utilizando as amostras de soro.

Depois de termos a otimização de anticorpo primário-secundário concluída foi fundamental determinar qual o fator de diluição de amostra a utilizar. Para isso, seguimos as recomendações das possíveis diluições e testámos para 0x, 100x, 500x e

1000x e considerámos a otimização de amostra diluída 100x (495µl de diluente, 5 µl de amostra).

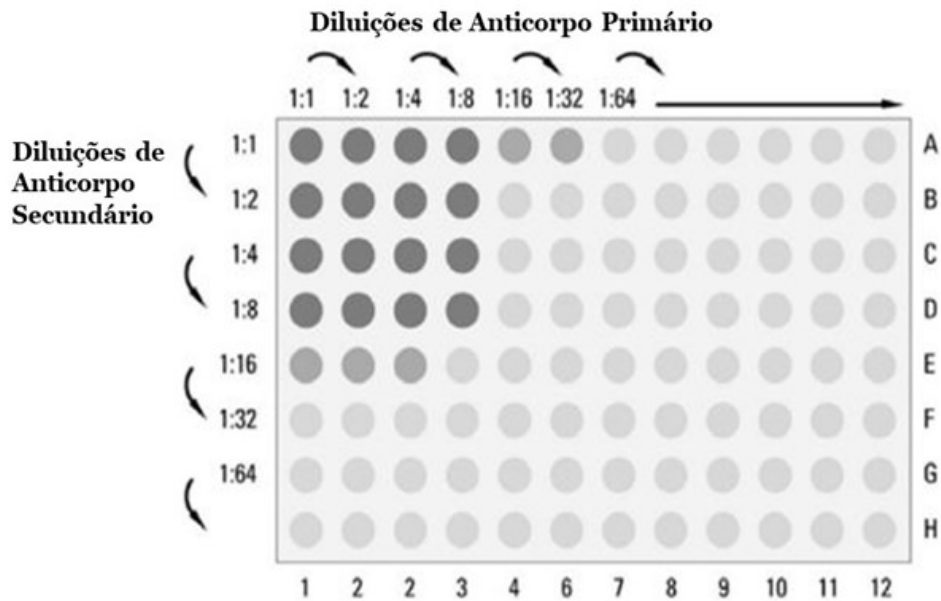


Figura 9: Otimização da concentração de anticorpos: Esquema representativo da otimização das concentrações de anticorpo primário e secundário a utilizar nos ensaios ELISA. A diluição sucessiva em esquema de tabela de duas entradas permitiu otimizar simultaneamente anticorpo primário versus secundário e obter a melhor razão sinal-ruído para os ensaios subsequentes de quantificação de amostras e obtenção de curvas de calibração, com base nos padrões preparados. Imagem adaptada de (42).

3.3.3. Procedimento

No procedimento utilizado foram realizados os seguintes passos:

1. Diluímos o anticorpo primário para as concentrações adequadas de acordo com as otimizações efetuadas. Os volumes pipetados por poço foram de 50 µL a 100 µL de Apolipoproteína E;
2. Após o enchimento dos poços da placa com anticorpo primário, incubámos o anticorpo primário durante a noite a 4°C (envolvido em folha de alumínio);
3. No dia seguinte, removemos a solução e procedemos à lavagem da placa, 3 vezes durante 5 minutos por lavagem, em plataforma giratória (*wash buffer*: duas vezes o volume pipetado de anticorpo primário).
4. Adicionámos solução de bloqueio (*blocking buffer*), três vezes o volume de anticorpo primário. Cobrimos a placa e incubámos à temperatura ambiente durante duas horas;

5. Durante o período de incubação da solução de bloqueio (*blocking buffer*), preparámos as amostras e soluções padrão para as curvas de calibração. Numa primeira fase recorremos a uma diluição elevada de amostra comparativamente ao diluente (1:500 e 1:1000) e, posteriormente, otimizámos para uma diluição de 1:100;
6. Removemos a solução de bloqueio e adicionámos os padrões e as amostras, cobrimos a placa e incubámos à temperatura ambiente durante uma hora;
7. Removemos a solução e efetuámos três lavagens com o dobro do volume do primeiro passo (5 minutos cada, em plataforma de agitação de placas);
8. Diluímos o anticorpo secundário associado à biotina, na concentração adequada e adicionámos a cada poço em volume igual ao primeiro passo, seguindo-se a incubação de uma hora, com a placa coberta, à temperatura ambiente;
9. Removemos a solução, procedendo a lavagens (200 μ L ou duas vezes o volume inicial, 3 vezes, 5 minutos cada, no agitador de placas);
10. Diluímos o conjugado enzimático à concentração adequada (100 μ L HRP stock + 900 μ L solução diluente) e adicionámos por poço, o volume igual ao primeiro passo e incubámos à temperatura ambiente, placa coberta, durante uma hora;
11. Neste passo efetuámos seis lavagens, nas mesmas condições anteriormente descritas;
12. Por fim, adicionámos substrato (TMB) a cada poço, em volume igual ao primeiro passo. Neste passo, cada incubação decorreu durante meia hora, tempo suficiente para se obter a intensidade de cor azul desejada, sendo visível um claro gradiente de cor correspondente às colunas das soluções padrão.
13. De forma a terminar a reação, adicionámos solução stop, esta conferia cor amarela aos poços cuja reação foi positiva. De seguida procedemos à leitura das microplacas no espectrofotómetro acoplado a leitor de placas, a uma absorbância de 450 nm.

4. Resultados

4.1. Cálculo de Risco de AVC de Framingham

A amostra deste estudo é constituída por 35 idosos, sendo que 10 indivíduos constituem o grupo de controlo, ou seja, pertencem ao grupo risco normal. Foram analisados todos os fatores necessários à aplicação da fórmula do risco de Framingham (tabela 5), nomeadamente a idade, o género, pressão arterial sistólica e prevalência de doenças cardiovasculares como a hipertensão, fibrilação auricular, aterosclerose, insuficiência cardíaca congestiva, enfarte agudo do miocárdio e ainda a diabetes.

Tabela 5 – Caracterização da População: contém as informações recolhidas e estratificação das amostras em categorias de Risco Normal, Risco Baixo, Risco Moderado e Risco Elevado com base na fórmula do cálculo de risco de AVC de Framingham.

	Risco normal n=10 28.6%	Risco baixo n=9 25.7%	Risco moderado n=7 20.0%	Risco elevado n=9 25.7%
Género				
Feminino	4 (40.0%)	4 (44.4%)	5 (71.4%)	7 (77.8%)
Masculino	6 (60.0%)	5 (55.6%)	2 (28.3%)	2 (22.2%)
Idade	75.20 ± 2.53	80.89 ± 2.87	81.71 ± 2.58	90.89 ± 1.48
Grupo de idade				
65-74 anos	6 (60.0%)	3 (33.3%)	1 (14.3%)	0
75-84 anos	2 (20.0%)	4 (44.4%)	4 (57.1%)	0
acima de 85 anos	2 (20.0%)	2 (22.2%)	2 (28.6%)	9 (100%)
Pressão sistólica	125.56 ± 7.53	116.00 ± 7.65	125.67 ± 12.39	133.00 ± 7.81
Terapia antihip.	5 (50.0%)	7 (77.8%)	6 (85.7%)	9 (100%)
Fibrilhação Auricular	0	1 (11.1%)	3 (42.9%)	6 (66.7%)
Insuficiencia Cardíaca	0	0	2 (28.6%)	7 (77.8%)
Diabetes	4 (44.4%)	2 (22.2%)	3 (42.9%)	3 (33.3%)

Quanto ao género temos um risco mais elevado no género feminino, uma vez que as percentagens de mulheres com risco elevado e risco moderado são superiores às dos homens (Tabela 5).

Relativo à faixa etária existe uma tendência para aumento do risco de AVC com a progressão da idade. Esta mesma tendência também está presente nos parâmetros relacionados com as doenças cardiovasculares (Pressão sistólica, % de terapia antihipertensiva, diagnóstico de fibrilação auricular e insuficiência cardíaca) (Tabela 5). Assim como a prevalência de doenças cardiovasculares, também se observou que as médias das idades vão aumentando à medida que aumenta o risco (Tabela 5).

4.2. Análise dos parâmetros bioquímicos de dislipidemia e Índice de Massa Corporal

Em conjunto com a análise do risco de sofrer AVC, foram também analisados parâmetros bioquímicos séricos relacionados com a dislipidemia (colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL e triglicéridos). As médias das concentrações séricas destes parâmetros foram calculadas e comparadas (Tabela 6 e Figuras 10, 11, 12, 13)

Tabela 6 – Valores médios dos níveis lipídicos (mg/dL) nos grupos de risco de AVC de Framingham. Os valores apresentados são a média \pm s.e.m. e os valores de P foram obtidos através da análise estatística pelo teste de ANOVA *One-way*, seguida a aplicação do *post-hoc* de *Dunnett*.

	Risco normal	Risco baixo	Risco moderado	Risco elevado	Valor do P
Colesterol total	168.39 \pm 11.78	149.46 \pm 11.10	157.62 \pm 13.36	160.84 \pm 16.69	0.743
Colesterol-HDL	51.73 \pm 2.45	53.46 \pm 5.11	60.42 \pm 5.91	60.72 \pm 5.82	0.557
Colesterol-LDL	87.19 \pm 11.98	79.37 \pm 11.13	78.17 \pm 11.92	78.45 \pm 11.92	0.933
Triglicéridos	147.35 \pm 21.51	83.14 \pm 7.26	95.20 \pm 16.06	108.36 \pm 22.28	0.037

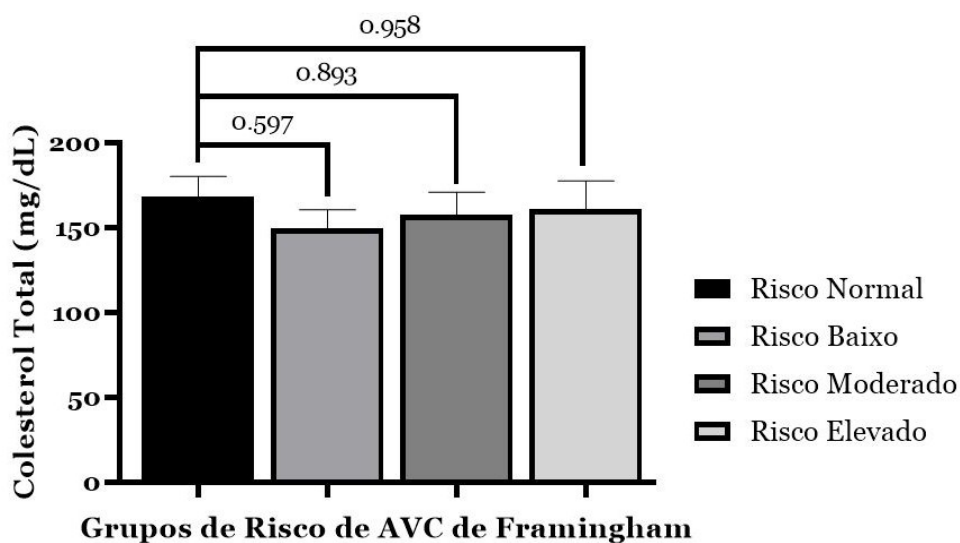


Figura 10 – Valores médios de colesterol total (mg/dL) nos grupos de risco de AVC. A análise estatística foi realizada através de ANOVA *One-way* e foi considerado significativo um valor do $P < 0.05$.

Não existem diferenças significativas nos níveis de colesterol total entre os grupos de AVC e o controlo (Tabela 6, figura 10).

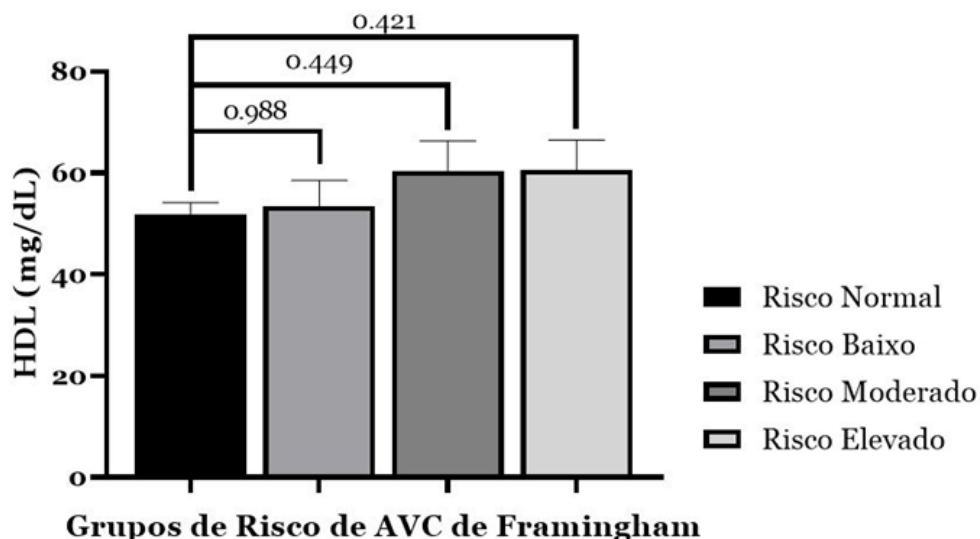


Figura 11 - Valores médios de colesterol-HDL (mg/dL) nos grupos de risco de AVC. A análise estatística foi realizada através de ANOVA *One-way* e foi considerado significativo um valor do $P < 0.05$.

Na figura 11 e na tabela 6 verifica-se uma tendência crescente de aumento do colesterol-HDL com o aumento do risco de AVC, estando próximos entre si o risco normal e o risco baixo comparativamente aos riscos moderado e elevado. No entanto as diferenças não são significativas ($P > 0.05$).

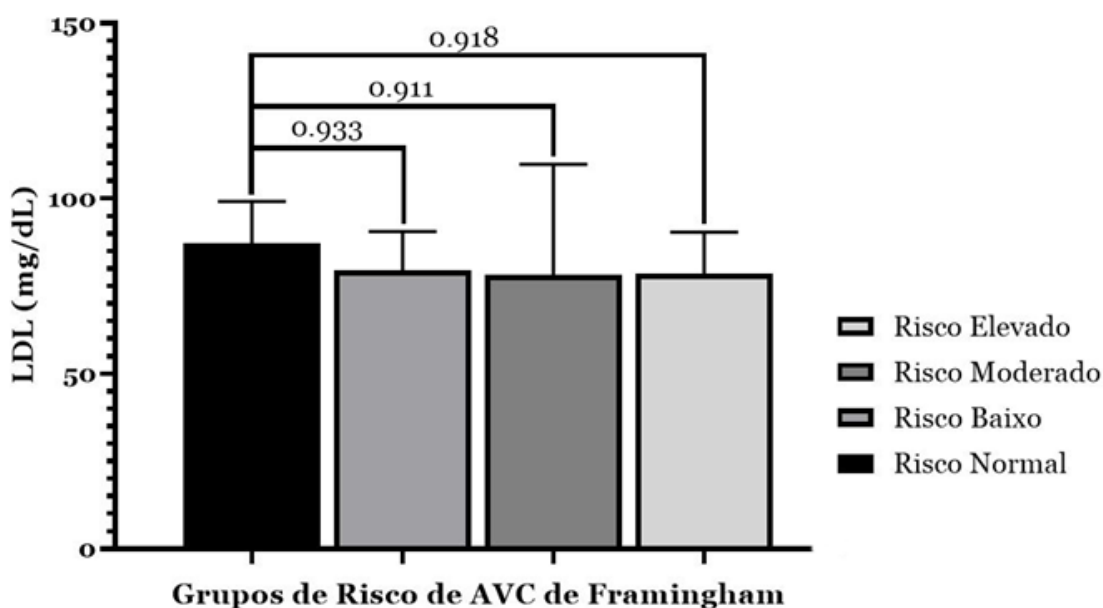


Figura 12 - Valores médios de colesterol-LDL (mg/dL) nos grupos de risco de AVC. A análise estatística foi realizada através de ANOVA *One-way* e foi considerado significativo um valor do $P < 0.05$.

Não existem diferenças significativas nos níveis de colesterol-LDL entre os grupos de AVC e o controlo (Tabela 6, Figura 12).

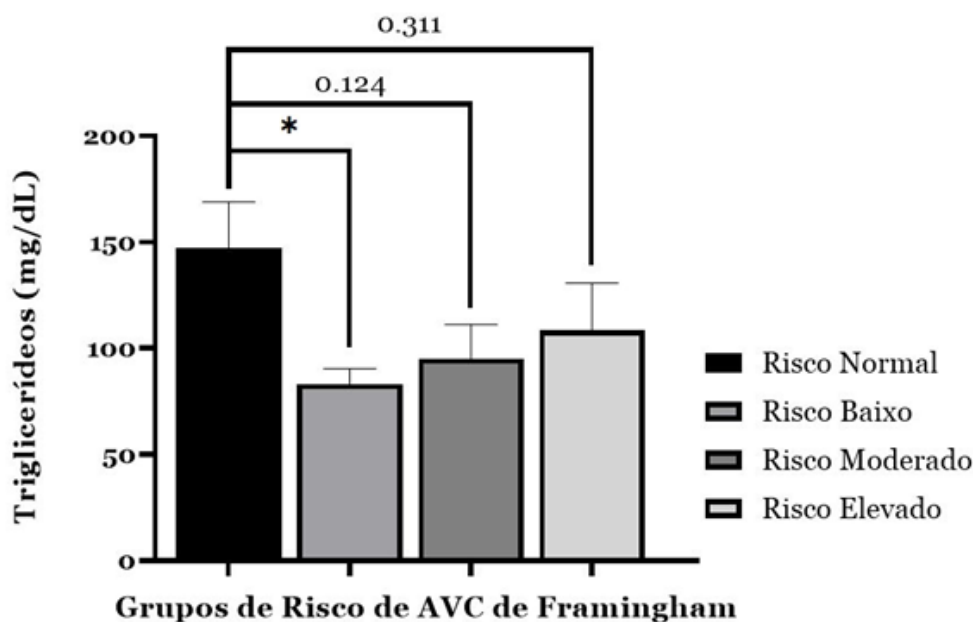


Figura 13 Valores médios de triglicéridos (mg/dL) nos grupos de risco de AVC. A análise estatística foi realizada através de ANOVA *One-way* e subsequente post hoc de Dunnett. Foi considerado significativo um valor do $P < 0.05$.

Na tabela 6 e figura 13 observaram-se diferenças significativas entre o grupo de risco normal de AVC e o de risco baixo de AVC. No geral, os níveis de triglicéridos são superiores nos idosos do grupo controlo que naqueles com maior risco de AVC, sendo estas diferenças significativas com o grupo de risco baixo ($P < 0.05$), com o grupo de risco moderado ($P = 0.124$) de risco elevado ($P = 0.311$) as diferenças não atingem significância estatística.

Tabela 7 – Valores médios do índice de massa corporal (IMC) nos grupos de risco de AVC. Os valores apresentados são a média \pm s.e.m. e os valores de P foram obtidos através da análise estatística pelo teste de ANOVA *One-way*.

	Risco normal	Risco baixo	Risco moderado	Risco elevado	Valor do P
IMC	23.38 \pm 1.68	24.75 \pm 1.25	25.00 \pm 1.82	28.86 \pm 2.10	0.466

Em resumo, em relação ao colesterol sérico é de notar um aumento nos níveis de colesterol-HDL com o aumento do risco de AVC. Relativamente ao colesterol-LDL, parece existir uma tendência oposta à anterior. Nos triglicéridos constatou-se uma diminuição significativa dos níveis séricos médios do grupo de baixo risco, em relação ao grupo de risco normal. Também os grupos de risco moderado e elevado têm níveis médios inferiores ao do grupo de risco normal.

En relação ao IMC, não foram observadas diferenças significativas ou tendências entre os valores médios dos grupos de risco de AVC (Tabela 7).

4.3. Otimização dos Ensaios ELISA Sandwich e quantificação da ApoE

Numa primeira fase, os ensaios ELISA Sandwich produziram resultados de otimização em que o principal objetivo foi encontrar uma concentração ótima de anticorpo a utilizar, seguindo-se as quantificações de ApoE sérica.

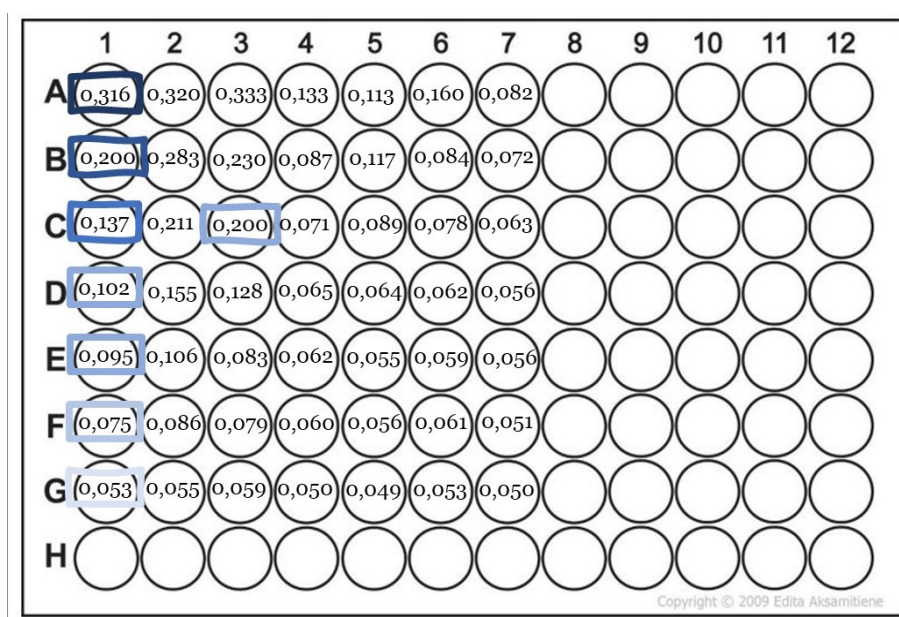


Figura 14 - Otimização da Concentração de Anticorpos: Imagem representativa de resultados de uma microplaca de ELISA Sandwich onde se realizaram diluições sucessivas de anticorpo primário vs anticorpo secundário.

Do exemplo da Figura 14 foi selecionado como melhor razão sinal-ruído a combinação obtida em C3, que exibiu uma razão S/N >3, utilizando quantidades eficientes de ambos os anticorpos. Esta estratégia permite otimizar a diluição de ambos anticorpos, poupando-se recursos e prevendo a reprodutibilidade da técnica.

Após a otimização de todos os constituintes da técnica de ELISA sandwich, procedeu-se à quantificação sérica de ApoE em 35 amostras de idosos pertencentes à EBICohort. Na tabela 8 e na figura 14 estão relatadas as médias das concentrações da ApoE nos diferentes grupos de risco de AVC.

Tabela 8 - Valores médios das concentrações séricas de ApoE determinadas por ELISA sandwich ($\mu\text{g}/\text{mL}$) nos grupos de risco de AVC. Os valores apresentados são a média \pm s.e.m. e os valores de P foram obtidos através da análise estatística pelo teste de ANOVA *One-way*.

	Risco normal	Risco baixo	Risco moderado	Risco elevado	Valor do P
APoE	82.42 \pm 4.51	96.54 \pm 7.69	109.37 \pm 10.02	92.67 \pm 7.18	0.040

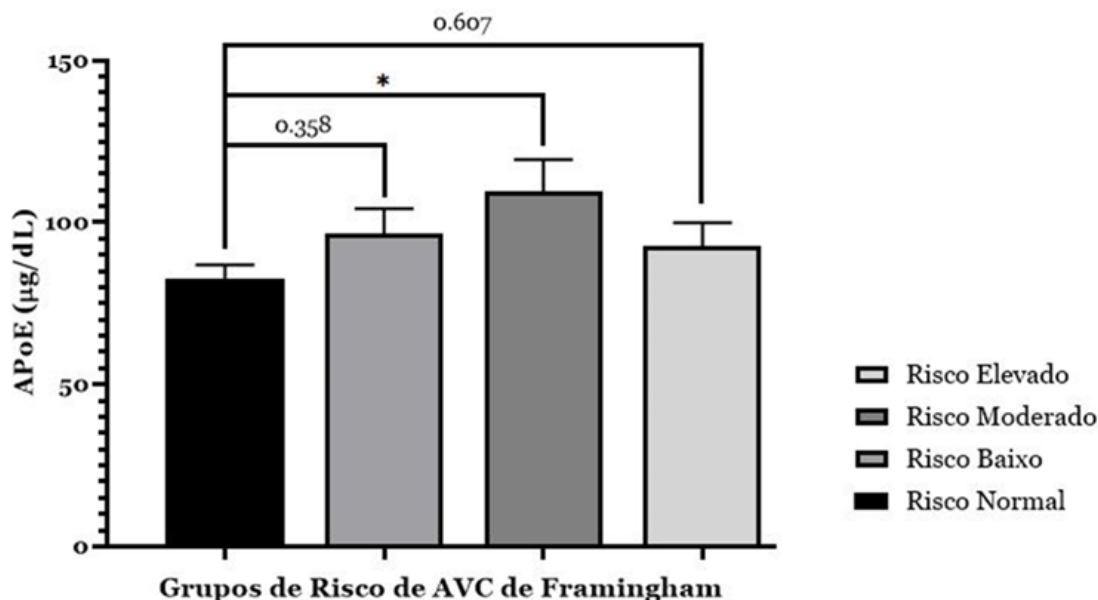


Figura 15 - Concentrações séricas de ApoE quantificadas por ELISA nos grupos de risco de AVC. A análise estatística foi realizada através de ANOVA *One-way*, seguida do post-hoc teste de Dunnett, e foi considerado significativo um valor do $P < 0.05$.

É de notar o aumento significativo da concentração média de ApoE nos grupos de risco baixo, moderado e elevado, quando comparados com o grupo de risco normal. Esta diferença é significativa entre os grupos de risco normal e moderado ($P\text{-value} = 0.040$).

4.4. Modelo de regressão linear explicativo dos valores de APoE

O modelo de regressão linear múltipla é uma extensão do modelo de regressão linear simples. Permite descrever uma relação entre um conjunto de variáveis quantitativas independentes e uma variável quantitativa dependente. Esta análise permite prever o valor de uma variável dependente, em função dos valores das variáveis dependentes.

Tabela 9 - Parâmetros obtidos no modelo de ApoE de regressão linear múltipla da APoE. Os preditores utilizados foram mostrados na tabela 5.

Modelo	R	R ²	R ² ajustado	Erro padrão	Valor do P
APoE (ug/mL)	0.905 ^a	0.819	0.704	14.16	0.002

^a Variável dependente = APoE

Tabela 10 – Modelo de regressão lineal multivariado que compara a relação entre os níveis de ApoE (variável dependente) e os parâmetros idade, género, valor de risco de AVC de Framingham, colesterol total, HDL, triglicerídeos e IMC (preditores do modelo).

Modelo APoE	Coefficientes não padronizados β	Erro	Coefficientes padronizados β	t	Valor do P
Constante	-299.343	86.951		-3.443	0.005
Idade	3.149	0.628	1.166	5.010	<0.001
Género	23.712	11.317	0.451	2.095	0.060
IMC	-3.288	1.019	-0.579	-3.228	0.008
Colesterol total (mg/dL)	0.211	0.132	0.290	1.601	0.138
Colesterol-HDL (mg/dL)	2.056	0.625	0.972	3.288	0.007
Triglicéridos (mg/dL)	0.497	0.193	0.887	2.581	0.026
FSRS	-0.662	0.242	-0.482	-2.739	0.019

Na equação obtida pelo modelo de regressão linear multivariada temos a ApoE como variável dependente e o risco de AVC de Framingham, colesterol total, HDL, triglicerídeos, IMC, género e idade como preditores. Neste modelo obtivemos um R quadrado ajustado que dá um valor que exprime as alterações nas determinações séricas de APoE, sendo interpretável que 70% das variações na expressão dos níveis de ApoE são explicados pelos parâmetros preditores.

Desta análise obtivemos valores com significância estatística para os parâmetros idade, género, IMC, HDL, triglicerídeos e risco de sofrer AVC de Framingham. Estão incluídas as variáveis colesterol total e género, que expressam valores de P que não conferem um valor de significância estatística. No entanto, as mesmas são essenciais à capacidade preditiva do modelo, pois aquando da sua remoção do modelo de regressão linear multivariada, verificou-se que a correlação de todas as outras variáveis com a ApoE piorava e o modelo perdia validade. Outra variável também estudada e que não se encontra no modelo, são os níveis de LDL que sempre que foram inseridos para equação, eram automaticamente excluídos pelo cálculo do modelo.

5. Discussão

Considerando a pertinência do estudo das doenças cerebrovasculares, em particular o AVC, é determinante o uso de ferramentas na avaliação do risco de doença, como estratégia de prevenção e monitorização. O uso da escala de Framingham é útil em termos clínicos como ferramenta de monitorização aplicável na avaliação de risco, na análise dos estilos de vida e das terapêuticas instituídas (33,34).

Adicionalmente, uma vez que o metabolismo lipídico está envolvido na ocorrência de diversas patologias, é pertinente a quantificação, a monitorização e o estudo da evolução dos níveis de moléculas como o colesterol total, colesterol-HLD, colesterol-LDL, triglicéridos e ApoE (29).

Dos estudos realizados anteriormente focando a genética da ApoE e o débito cardíaco, em particular a APoE4, comprovou-se a influência da ApoE na patologia neurovascular, conducente a um pior desempenho neuropsicológico em adultos idosos (43,44). Relacionando a ApoE com o metabolismo de ácidos gordos, um estudo aponta a ApoE4 como protetiva quando associada a ácido linoleico e, que provoca diminuição de AVC e dos casos de mortalidade, ao mesmo tempo em que a associação da APoE4 ao ácido palmítico produz efeitos contrários, sendo associada a um aumento de risco de AVC isquémico e mortalidade (28).

A escala de Framingham tem sido utilizada por investigadores na estratificação de risco e caracterização de coortes, em particular na avaliação de angiopatia cerebral amiloide (45), avaliação do débito cardíaco e declínio cognitivo (43), avaliação da cognição associada a espaços perivasculares (46), além da utilização da fórmula de Framingham para cálculo do risco de AVC (26,33,34). Neste sentido foi importante a utilização da escala de Framingham neste estudo. Assim, a estratificação em grupos de risco de Framingham (Risco Normal, Risco Baixo, Risco Moderado, Risco Elevado), resultou da aplicação do correspondente algoritmo, usando os dados recolhidos e medidos e estabelecendo níveis de risco para cada grupo.

Quanto aos resultados do risco relativamente ao género e idade, está descrito na bibliografia que existe uma incidência de AVC superior nos homens comparativamente às mulheres. No entanto, quando consideramos uma esperança de vida superior nas mulheres comparativamente aos homens e adicionamos o fator idade e o peso que este tem no aumento do risco, verificamos que o risco de AVC é superior na população

feminina. Em todos os casos, verificou-se, como esperado, que a idade contribui para o aumento do risco de doença (4).

Relativo às medições de pressão arterial sistólica, verifica-se que para uma pressão sistólica considerada normal a normal alta existe uma maior predominância da população que se inclui na classificação de risco normal ou risco baixo, o que concorda com a utilização da variável no algoritmo de Framingham. Já nas determinações em que os valores se incluem na classificação de hipertensão, o maior peso percentual cai na classificação de risco elevado. Esta predominância no risco elevado verifica-se de igual forma nos idosos que estão em terapêutica anti-hipertensiva e que apresentam comorbilidades como fibrilação auricular, aterosclerose, insuficiência cardíaca congestiva ou enfarte agudo do miocárdio.

As comparações, utilizando métodos estadísticos convencionais, dos níveis de colesterol total, colesterol-LDL, colesterol-HDL e o IMC entre os grupos de risco de AVC não produziram resultados com significância estatística, o que poderia sugerir que não são relevantes para predizer risco de AVC. No entanto, outros autores têm indicado que níveis elevados de colesterol total e colesterol-LDL, e também níveis diminuídos de colesterol-HDL, assim como um elevado IMC, estão relacionados com o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Neste sentido, estes parâmetros também foram considerados como relevantes para proceder ao cálculo do risco de AVC (25,26,29,31,32). Em realidade, o facto de não encontrarmos uma relação discriminatória entre os grupos de risco e estas variáveis pode estar relacionado com o facto destes parâmetros não estarem contemplados na fórmula de cálculo de risco de Framingham.

Relativamente à relação entre os níveis de triglicéridos séricos e os grupos de risco de AVC, foram observados níveis mais baixos nos grupos de risco em relação ao grupo normal, nomeadamente com o grupo de risco normal.

Relativamente aos níveis de APoE, foram observados níveis de ApoE superiores nos grupos de risco em relação ao grupo controlo, nomeadamente entre o controlo e o grupo de risco moderado de AVC. Estes dados sugerem a existência de relação entre elevados níveis séricos da ApoE e aumento do risco de um idoso vir a sofrer AVC.

Uma vez que observamos a relação dos níveis de ApoE com o risco de AVC, foi estudada a obtenção de um modelo de regressão linear múltipla que justificasse a relação destas variáveis com outras estudadas. Trata-se de uma análise estatística que permite o estudo

da influência de múltiplas variáveis entre si e avalia quão forte é a relação entre elas e uma variável dependente, que no neste caso são os níveis séricos de ApoE. O modelo é estatisticamente significativo ($P=0.002$) e justifica 70.4% dos dados (R^2 ajustado = 0.704). A maioria das diferentes variáveis que comportam o modelo contribuem significativamente na correlação com os níveis de ApoE (idade, IMC, colesterol-HDL, triglicéridos e score de Framingham). Só colesterol total ($p=0.138$) e o gênero ($p=0.060$) não contribuem significativamente. No entanto, estas variáveis conferem relevância ao modelo pois, a sua remoção do modelo de regressão linear múltipla afeta gravemente o valor do R^2 ajustado e também os parâmetros relacionados com as outras variáveis.

Existe, portanto, uma correlação entre a ApoE e os parâmetros do cálculo de risco de AVC de Framingham, a idade, o gênero, o IMC, o colesterol-HDL e o total e os triglicéridos, onde 70,4% das alterações nos níveis de expressão de ApoE podem ser explicados pelas variações destas variáveis.

Como proteína plasmática envolvida no metabolismo lipídico, a ApoE tem sido estudada como um possível biomarcador para o AVC. No entanto, esta associação é controversa. Existem sobretudo estudos que tentaram estabelecer associações entre a expressão dos diferentes alelos da apolipoproteína e o risco de sofrer AVC.

Alguns estudos apontam o alelo ApoE ϵ_2 como um possível responsável pelo AVC isquêmico, enquanto o alelo ApoE ϵ_4 foi associado a episódios de hemorragia intracerebral e subaracnoide (47,48). Todavia, outros estudos contrariam estes resultados, reportando fortes correlações entre os níveis de expressão de ApoE ϵ_4 e a ocorrência de AVC isquêmico, atribuindo o risco acrescido de AVC hemorrágico aos portadores do alelo 2 (49,50). Adicionalmente, existem ainda estudos que reafirmam a associação entre a expressão da ApoE ϵ_4 e o risco de sofrer AVC isquêmico, mas apenas para populações caucasianas, não confirmando esta relação para outras etnias (51). Desconhecem-se, até à data, estudos que tenham feito a quantificação sérica ou plasmática da ApoE e tenham relacionado com o risco de AVC. Porém, os resultados obtidos em estudos prévios e os apresentados neste estudo são indicativos da importância da ApoE no risco de AVC.

Outro tipo de estudos averiguaram a interação entre o genótipo de ApoE e outras variáveis como o gênero (47,52), níveis séricos de LDL, colesterol total e triglicéridos e a ocorrência de AVC (52,53). Das *et al.* analisaram a associação dos genótipos ϵ_2 , ϵ_3 e ϵ_4 da ApoE com diferentes níveis de lipídios. Estes investigadores observaram uma correlação significativa entre os níveis VLDL e triglicéridos, com os diferentes genótipos

e a ocorrência de AVC isquêmico (53). Outro estudo concluiu que níveis de colesterol total baixos foram associados ao genótipo ApoE $\epsilon 2/\epsilon 3$, tanto em homens, como em mulheres. Contudo, a diminuição dos níveis de colesterol total foi associado ao aumento da taxa de mortalidade por AVC, apenas em mulheres (52). Os resultados observados nestes estudos e no estudo realizado em amostras da EBICohort indicam que a influência de fatores como o gênero e concentrações séricas de lípidos podem desempenhar um papel importante na expressão e nos níveis de ApoE.

Os resultados aqui apresentados foram publicados sob a forma de poster no “XVI CICS-UBI Symposium”, que decorreu no passado dia 1 de outubro de 2021. O mesmo encontra-se em anexo no Apêndice 1.

6. Conclusão

O Acidente Vascular Cerebral é uma condição que afeta anualmente e à escala mundial cerca de 15 a 17 milhões de pessoas, sendo determinante no estabelecimento de consequências graves que comprometem a sobrevivência. Deste estudo, em adição às mudanças nos estilos de vida, particularmente alimentação saudável e prática de exercício físico, podemos comprovar a elevada importância do uso de escalas na avaliação do risco de AVC, nomeadamente o cálculo de risco de Framingham na prevenção e monitorização das doenças cardiovasculares.

Os lípidos circulantes na corrente sanguínea, nomeadamente colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL e triglicéridos são parâmetros que comumente são monitorizadas através de testes bioquímicos e que estão relacionadas com doenças metabólicas como as dislipidemias. Como consequência de apresentarem poucos sinais e sintomas, são determinantes no risco e desenvolvimento de doenças cardiovasculares. A par destas, apolipoproteínas como a APoE, ao interagirem com lipoproteínas circulantes envolvidas no metabolismo do colesterol, podem de igual forma ser preponderantes no estabelecimento de doenças cardiovasculares como o AVC.

Neste estudo conseguimos revelar a existência de uma relação entre o aumento dos níveis de ApoE e o aumento do risco de AVC. Também foi realizado um modelo que estabelece uma muito boa correlação entre os níveis de ApoE e diferentes variáveis como próprio risco de AVC de Framingham, a idade, o género, o IMC, o colesterol-HDL e o total e os triglicéridos o que sugere que apoE, em conjunto com estas variáveis podem constituir um set de marcadores de risco de AVC.

7. Referências Bibliográficas

1. WHO. WHO EMRO | Stroke, Cerebrovascular accident | Health topics [Internet]. 2018. p. 1. Disponível a 27 de setembro 2021 em: <http://www.emro.who.int/health-topics/stroke-cerebrovascular-accident/index.html>
2. Stroke Facts & Statistics - Stroke Awareness Foundation [Internet]. Disponível a 27 de setembro 2021 em: <https://www.strokeinfo.org/stroke-facts-statistics/>
3. Khaku AS, Tadi P. Cerebrovascular Disease. *Neurobiol Brain Disord Biol Basis Neurol Psychiatr Disord*. 2021 Aug 11;339–55.
4. Béjot Y, Daubail B, Giroud M. Epidemiology of stroke and transient ischemic attacks: Current knowledge and perspectives. *Rev Neurol (Paris)*. 2016;172(1):59–68.
5. World Health O. WHO list of priority medical devices for management of cardiovascular diseases and diabetes [Internet]. WHO medical device technical series; 2021. Disponível a 27 de setembro 2021 em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/341967>
6. Wafa HA, Wolfe CDA, Emmett E, Roth GA, Johnson CO, Wang Y. Burden of Stroke in Europe: Thirty-Year Projections of Incidence, Prevalence, Deaths, and Disability-Adjusted Life Years. *Stroke*. 2020 Aug 1;51(8):2418–27.
7. Instituto Nacional de Estatística. Causas de morte Mortes por doenças do aparelho respiratório aumentaram 3,8%. Destaque no INE. 2018;2018(11 235):1–10.
8. Ferreira RC., Neves RC., Nogueira PJ., Farinha CS., Oliveira AL., Soares A., Alves MI., Martins J., Medanha T., Rosa MV., Silva C. SL. Programa Nacional para as Doenças Cérebro-Cardiovasculares. Direção Geral da Saúde [Internet]. 2016;91. Disponível a 10 de outubro 2021 em: <https://www.dgs.pt/em-destaque/portugal-doencas-cerebro-cardiovasculares-em-numeros-201511.aspx>
9. WHO Regional Office for Europe. Health for All explorer - European Health Information Gateway [Internet]. 2018. Disponível a 9 outubro 2021 em: <https://gateway.euro.who.int/en/hfa-explorer/>
10. Hinchliff SM. Pathophysiology: Concepts of altered health states. *Int J Nurs Stud*. 1982;19(3):178.
11. Visão geral do acidente vascular cerebral - Distúrbios neurológicos - Manuais MSD edição para profissionais [Internet]. Disponível a 10 outubro 2021 em: <https://www.msmanuals.com/pt-pt/profissional/disturbios-neurológicos/acidente-vascular-encefálico-ave/acidente-vascular-encefálico-isquêmico>

12. Nagahiro S, Uno M, Sato K, Goto S, Morioka M, Ushio Y. Pathophysiology and treatment of cerebral ischemia. *J Med Investig.* 1998;45(1-2):57-70.
13. Sánchez-Chávez JJ. Penumbra area. *Rev Neurol.* 1999;28(8):810-6.
14. Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature.* 2000;407(6801):233-41.
15. Venkataraman P, Tadi P, Lui F. Lacunar Syndromes. *StatPearls.* 2021 Jul 5;
16. AKA U, P M. Hemorrhagic Stroke. 2021;
17. Mergenthaler P, Dirnagl U, Kunz A. Ischemic Stroke: Basic Pathophysiology and Clinical Implication. *Neurosci 21st Century From Basic to Clin Second Ed.* 2016 Jan 1;3385-405.
18. Via Verde do Acidente Vascular Cerebral no Adulto – Normas de Orientação Clínica.
19. Pandian JD, Gall SL, Kate MP, Silva GS, Akinyemi RO, Ovbiagele BI, et al. Prevention of stroke: a global perspective. *Lancet.* 2018;392(10154):1269-78.
20. Béjot Y, Daubail B, Giroud M. Epidemiology of stroke and transient ischemic attacks: Current knowledge and perspectives. *Rev Neurol (Paris).* 2016;172(1):59-68.
21. Knight-Greenfield A, Nario JJQ, Gupta A. Causes of Acute Stroke: A Patterned Approach. *Radiol Clin North Am.* 2019;57(6):1093-108.
22. Guzik A, Bushnell C. Stroke Epidemiology and Risk Factor Management. *Contin Lifelong Learn Neurol.* 2017;23(1):15-39.
23. Barthels D, Das H. Current advances in ischemic stroke research and therapies. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis.* 2020;1866(4).
24. Caprio FZ, Sorond FA. Cerebrovascular Disease: Primary and Secondary Stroke Prevention. *Med Clin North Am [Internet].* 2019;103(2):295-308. Disponível a 10 outubro 2021 em: <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2018.10.001>
25. Kihara S. Dyslipidemia. *Nihon Rinsho.* 2013;71(2):275-9.
26. D'Agostino RB, Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: The Framingham heart study. *Circulation.* 2008;117(6):743-53.
27. Jonas A, Phillips MC. Lipoprotein structure. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes.* 2008. p. 485-506.
28. Satizabal CL, Samieri C, Davis-Plourde KL, Voetsch B, Aparicio HJ, Pase MP, et al. ApoE and the association of fatty acids with the risk of stroke, coronary heart disease, and

- mortality. *Stroke*. 2018;49(12):2822–9.
29. Lee Y, Siddiqui WJ. Cholesterol Levels [Internet]. StatPearls. StatPearls Publishing; 2021. Disponível a 30 setembro 2021 em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542294/>
 30. CUF. Dislipidemia | CUF [Internet]. 2020. Disponível a 30 setembro 2021 em: <https://www.cuf.pt/saude-a-z/dislipidemia>
 31. Pirahanchi Y, Sinawe H, Dimri M. Biochemistry, LDL Cholesterol. StatPearls. 2021 Aug 15;
 32. Huff T, Jialal I. Physiology, Cholesterol. StatPearls. StatPearls Publishing; 2018.
 33. Wolf PA, D'Agostino RB, Belanger AJ, Kannel WB. Probability of stroke: A risk profile from the framingham study. *Stroke*. 1991;22(3):312–8.
 34. Dufouil C, Beiser A, McLure LA, Wolf PA, Tzourio C, Howard VJ, et al. Revised framingham stroke risk profile to reflect temporal trends. *Circulation*. 2017;135(12):1145–59.
 35. Jahangiry L, Farhangi MA, Rezaei F. Framingham risk score for estimation of 10-years of cardiovascular diseases risk in patients with metabolic syndrome. *J Heal Popul Nutr*. 2017;36(1):1–6.
 36. Chen Y, Strickland MR, Soranno A, Holtzman DM. Apolipoprotein E: Structural Insights and Links to Alzheimer Disease Pathogenesis. *Neuron*. 2021;109(2):205–21.
 37. Kockx M, Traini M, Kritharides L. Cell-specific production, secretion, and function of apolipoprotein E. *J Mol Med*. 2018 May 1;96(5):361–71.
 38. Knol MJ, Lu D, Traylor M, Adams HHH, Romero JRJ, Smith A V., et al. Association of common genetic variants with brain microbleeds: A genome-wide association study. *Neurology*. 2020;95(24):e3331–43.
 39. Liu C-C, Kanekiyo T, Xu H, Bu G. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms, and therapy. *Nat Rev Neurol*. 2013 Feb;9(2):106.
 40. Sandwich ELISA Protocol - Leinco Technologies [Internet]. Disponível a 22 setembro 2021 em: <https://www.leinco.com/sandwich-elisa-protocol/>
 41. Bio-Rad. Types of ELISA. Bio-Rad Lab Inc [Internet]. 2017. Disponível a 22 setembro 2021 em: <https://www.bosterbio.com/newsletter-archive/20170728-which-elisa>
 42. Pierce Biotechnology. ELISA technical guide and protocols. Thermo Sci. 2010;65(815):1–14.

43. Bown CW, Do R, Khan OA, Liu D, Cambronerero FE, Moore EE, et al. Lower Cardiac Output Relates to Longitudinal Cognitive Decline in Aging Adults. *Front Psychol.* 2020.
44. Bown CW, Liu D, Osborn KE, Gupta DK, Mendes LA, Pechman KR, et al. Apolipoprotein E Genotype Modifies the Association Between Cardiac Output and Cognition in Older Adults. *J Am Heart Assoc.* 2019;8(15).
45. Shoamanesh A, Akoudad S, Himali JJ, Beiser AS, DeCarli C, Seshadri S, et al. Cortical superficial siderosis in the general population: The Framingham Heart and Rotterdam studies. *Int J Stroke.* 2021;0(0):1–11.
46. Passiak BS, Liu D, Kresge HA, Cambronerero FE, Pechman KR, Osborn KE, et al. Perivascular spaces contribute to cognition beyond other small vessel disease markers. *Neurology.* 2019;92(12):E1309–21.
47. Kokubo Y, Chowdhury AH, Date C, Yokoyama T, Sobue H, Tanaka H. Age-dependent association of apolipoprotein E genotypes with stroke subtypes in a Japanese rural population. *Stroke.* 2000;31(6):1299–306.
48. Blazejewska-Hyzorek B, Gromadzka G, Skowronska M, Czlonkowska A. ApoE ϵ 2 allele is an independent risk factor for vulnerable carotid plaque in ischemic stroke patients. *Neurol Res.* 2014;36(11):950–4.
49. Chowdhury AH, Yokoyama T, Kokubo Y, Zaman MM, Haque A, Tanaka H. Apolipoprotein E genetic polymorphism and stroke subtypes in a Bangladeshi hospital-based study. *J Epidemiol.* 2001;11(3):131–8.
50. Wei LK, Au A, Menon S, Griffiths LR, Kooi CW, Irene L, et al. Polymorphisms of MTHFR, eNOS, ACE, AGT, ApoE, PON1, PDE4D, and Ischemic Stroke: Meta-Analysis. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2017;26(11):2482–93.
51. Sudlow C, Martínez González NA, Kim J, Clark C. Does Apolipoprotein E genotype influence the risk of ischemic stroke, intracerebral hemorrhage, or subarachnoid hemorrhage? Systematic review and meta-analyses of 31 studies among 5961 cases and 17 965 controls. *Stroke.* 2006;37(2):364–70.
52. Gromadzka G, Barańska-Gieruszczak M, Ciesielska A, Sarzyńska-Dlugosz I, Czlonkowska A. ApoE genotype and serum cholesterol in predicting risk for early death from ischemic stroke in men and women. *Cerebrovasc Dis.* 2005;20(5):291–8.
53. Das S, Kaul S, Jyothy A, Munshi A. Association of ApoE (E2, E3 and E4) gene variants and lipid levels in ischemic stroke, its subtypes and hemorrhagic stroke in a South Indian population. *Neurosci Lett.* 2016;628:136–41.

Capítulo 2 – Estágio Curricular em Farmácia Comunitária

1. Introdução

Conhecida tradicionalmente como um local de aconselhamento, preparação e dispensa de medicamentos, a Farmácia Comunitária tem evoluído com o passar dos anos como espaço de saúde reconhecido e de fácil acesso aos utentes.

Seja dada qualquer época do ano, as farmácias adaptam-se às mudanças, exigências e necessidades da população. O exemplo mais recente foi o contexto pandémico, em que as farmácias assumiram a linha da frente na disponibilização de cuidados de saúde, dispensa de medicamentos, e uma intervenção ativa na prevenção e controlo de problemas de saúde, desde os mais ligeiros a doenças crónicas (1).

O meu estágio em Farmácia Comunitária surge como consolidação de todo o conhecimento obtido ao longo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, teve início a 1 de fevereiro e decorreu ao longo de 20 semanas.

Considero que foi uma experiência desafiante, principalmente por ter acompanhado a evolução da pandemia numa outra perspetiva. A par da consolidação de conhecimentos teóricos, todos os dias se apresentaram com um leque de aprendizagens diferentes, onde pude crescer sob a orientação de todos os elementos da farmácia.

No presente relatório são focadas as diferentes áreas de atuação de um farmacêutico comunitário, desde a logística e toda a envolvência da farmácia como espaço físico, à sua função na farmácia como espaço de saúde, destinado a servir o utente e a comunidade.

1.1. Grupo Holon

O Grupo Holon, aposta no melhor atendimento aos utentes, de forma empática e diversificada. Neste sentido, numa farmácia Holon, não só encontramos uma grande variedade de medicamentos e produtos de saúde, como também uma diversidade de serviços e cuidados de saúde (2).

Dentro de uma farmácia Holon, existem equipas multidisciplinares (farmacêuticos, técnicos de farmácia, enfermeiros, podologistas) que garantem o funcionamento de qualidade de todos os serviços prestados, onde o objetivo primordial é a saúde e satisfação dos utentes (2).

Um farmacêutico Holon prima pela qualidade no atendimento e é frequentemente alvo de atualização científica, avaliações de desempenho, assim como participa ativamente na promoção da saúde junto de outras entidades dentro ou fora do espaço físico da sua farmácia.

A farmácia onde efetuei o estágio é a Farmácia Pedroso, pertencente ao grupo Holon e que funciona em cooperação com outras farmácias Holon, sendo estas a Farmácia São João, Farmácia Holon Covilhã, Farmácia Diamatino (Fundão), Farmácia Torre das Argolas (Costa de Caparica) e Farmácia Corvo (Montijo).

2. Farmácia Pedroso

2.1. Local e Horário de Funcionamento

Sendo a farmácia um espaço de saúde reconhecido pelos utentes, acaba por ser o primeiro ponto de contato entre um utente e um profissional de saúde, tanto pela acessibilidade aos medicamentos e demais produtos de saúde como pela confiança que os utentes têm nos farmacêuticos. (1,3).

Situada na Rua Comendador Campos Melo, a FP tem um horário de funcionamento diário, das 8h às 20h. Este tipo de horário é uma vantagem na prestação de serviços e cuidados de saúde, pois coincide com o maior fluxo de utentes que circulam pela zona. Caracterizando a população no geral, existe um número razoável de utentes fidelizados à FP, assim como utentes que estão apenas de passagem. Em termos de afluência e movimento, há uma maior presença de utentes idosos pela parte da manhã e mais utentes jovens pelo final do dia, onde a procura de aconselhamento e atendimentos diversificados aumenta (1,3–5).

Esta é, então, uma farmácia que se localiza numa das zonas mais populares da Covilhã. A localização acaba por ser ideal na medida em que serve não só muitos idosos que habitam nas proximidades como também serve muito público jovem, nomeadamente estudantes universitários.

2.2. Espaço Exterior

A FP tem duas fachadas em vidro, podemos ver a cruz verde luminosa, também estão visíveis os serviços que a FP dispõe, horário de funcionamento, calendarização das farmácias de serviço, e uma placa com o nome da direção técnica. O acesso à farmácia é facilitado a todos os utentes, incluindo os que possuam mobilidade reduzida (3,5).

2.3. Espaço Interior

No espaço interior está visível a área de atendimento, dividida em 4 balcões de atendimento. Num dos balcões idosos ou portadores de alguma incapacidade podem esperar sentados. Cada balcão possui acrílicos como forma de proteção. Os balcões estão equipados com computadores com o Sifarma 2000®, impressoras de talões, impressoras de etiquetas de posologia, terminais de multibanco e leitores de cartão de cidadão. Do espaço interior também pode-se destacar os gabinetes de atendimento personalizado e uma casa de banho. Já não acessível ao público está a zona de armazém, dividida em 3 pisos.

2.3.1. BackOffice

No piso inferior dedicado a arquivo e a um laboratório que possui todas as condições para a realização de medicamentos manipulados. Apesar das instalações estarem preparadas para a manipulação, dada a baixa quantidade de pedidos e como forma a gerir da melhor forma matérias-primas, todos os pedidos de medicamentos manipulados são encaminhados para a Farmácia Diamantino (Fundão) sendo disponibilizados à FP através do estafeta responsável (1). O piso zero é dedicado à grande parte do movimento diário, onde estão dispostos na sua maioria os medicamentos da farmácia, registo de encomendas e agendamento de serviços, bancada laboratorial para preparações extemporâneas, receção de resíduos para o Valormed®, entre outros (1).

No piso superior encontra-se a zona de receção de encomendas e demais atividades de gestão, escritório da Direção Técnica e fontes de informação científica (Prontuário Terapêutico, Formulário Galénico Português, Farmacopeia Portuguesa). Este piso é também utilizado para acondicionar todos os produtos que se encontram em excesso. Sendo uma área exclusiva à equipa técnica da farmácia, é neste piso que se rececionam todas as encomendas, se realizam reuniões e formações, e estão também localizadas a copa e zona sanitária exclusiva à equipa (1).

2.3.2. Área de Atendimento

É uma área ampla tendo bem identificados os diferentes produtos de fácil acesso ao utente, que auxilia não só ao utente aceder ao que necessita, mas também ao farmacêutico no atendimento.

Grande parte dos medicamentos não sujeitos a receita medica (MNSRM), produtos de dermocosmética e outros produtos de saúde encontram-se dispostos pelos vários expositores lineares centrais. Cada expositor ou linear está devidamente identificado com o foco de cada produto ou conjunto de produtos expostos.

Todo o tipo de medicamentos que embora sejam não sujeitos a receita médica, mas que possam constituir um risco ao utente estão dispostos atrás dos balcões, não estando facilmente acessíveis. Esta estratégia assume um papel fundamental dado que muitas situações, apesar de ligeiras, necessitam de observação e avaliação por um profissional de saúde, quer seja por avaliar o grau de gravidade e risco para o utente, como também pelo melhor aconselhamento e uso racional do medicamento (1).

2.3.3. Gabinetes de Atendimento Personalizado

Existem dois gabinetes de atendimento personalizado. Um dos gabinetes é mais utilizado para os serviços de medição da tensão arterial, testes bioquímicos e administração de vacinas e injetáveis, ao passo que o outro gabinete é frequentemente utilizado para as consultas dos serviços de

nutrição, pé diabético, dermofarmácia e podologia. Este segundo gabinete também é utilizado com alguma frequência quando surge algum utente que necessita de cuidados de primários.

Ambos os gabinetes atendem as necessidades extra dos utentes, não só através dos serviços prestados, mas também em termos de comodidade e privacidade, constituindo um ambiente seguro para o utente. O recurso aos gabinetes é muitas vezes motivado pelo pessoal técnico, sendo frequentemente procurado pelo público atendendo à disponibilidade, empatia e confiança que os utentes têm nestes profissionais de saúde.

Nestes gabinetes existem equipamentos para determinação de parâmetros bioquímicos, os diferentes materiais para a correta realização das técnicas de colheita de amostras biológicas, material de penso, kit de primeiros socorros, macas reclináveis, contentores para resíduos biológicos e corto-perfurantes.

2.4. Equipa Técnica

A equipa técnica da FP é composta por 5 farmacêuticos, sendo um deles a Diretora Técnica, dois Farmacêuticos Substitutos que exercem os papéis da direção técnica na ausência da mesma, e um técnico de farmácia (3,6).

Cada membro da equipa técnica está destinado a uma dada função, por exemplo, marketing, logística e compras, intervenção na comunidade (rastreios e estudos), receituário, serviços e agendamento de consultas.

De uma forma geral, além do atendimento ao público, cada um acaba a ter uma responsabilidade sobre determinada área de intervenção dentro do organograma da farmácia. Essas mesmas funções podem ser exercidas de forma interdependente por outro colaborador, isto é, no caso de ausência ou indisponibilidade do principal responsável (3,6).

2.5. Sistema Informático

O Sistema informático utilizado é o Sifarma 2000®, aplicação informática patente da *Glintt*®, onde são efetuadas todas as operações de atendimento, gestão e receção de encomendas, devoluções, análise da faturação.

Esta aplicação informática demonstra-se útil em todas as atividades da farmácia, particularmente no atendimento, onde intuitivamente cada utilizador consegue aceder ao historial do utente, proceder a um aconselhamento com mais confiança e segurança, tendo acesso a dados científicos de cada medicamento que está a ser dispensado (cuidados na utilização, posologia, interações e efeitos adversos). Relativamente à gestão permite uma minimização de erros, controlo dos prazos de validade, gestão de custos e lucros, controlo de stocks, entre outros (7).

2.6. Fontes de Informação

Dada a constante atualização científica, um farmacêutico comunitário deve estar sempre atualizado e a par da informação mais correta e atualizada possível. É fundamental existirem, além das fontes informáticas, material bibliográfico acessível. Seguindo as Boas Práticas de Farmácia Comunitária, a FP dispõe de material bibliográfico acessível a toda a equipa técnica, tais como o Prontuário Terapêutico, Farmacopeia Portuguesa, Legislação Farmacêutica e todos os formulários e documentos importantes e informativos (1).

Sempre que aplicável e de forma a colmatar lacunas ou atualizações de informação, tanto o INFARMED como a Associação Nacional das Farmácias (ANF) constituem uma ferramenta chave na transmissão da informação de forma eficaz e uniforme às farmácias, através da comunicação por circulares ou normas diretivas (1).

Outras fontes de informação incluem o Centro de Informação do Medicamento da Ordem dos Farmacêuticos e portal do INFARMED. Relativamente às informações sobre produtos e medicamentos de uso veterinário podemos consultar a Direção-Geral da Alimentação e Veterinária (DGAV).

3. Circuito do Medicamento e Logística

3.1. Realização de Encomendas

Para garantir o acesso ao medicamento a todos os utentes, a farmácia deve ter os mesmos em quantidade para suprir as suas necessidades. Assim, existem várias formas de os obter, seja através dos seus fornecedores principais, seja através de encomendas diretas a laboratórios. Os armazenistas pelos quais a FP tem acordo e realiza a maior parte das suas encomendas são a OCP® e Cooprofar®.

Dentro das diferentes tipologias de encomendas, podemos destacar:

- Encomenda Diária

A encomenda diária é realizada todos os dias, baseia-se no fluxo de medicamentos que saíram da farmácia ao longo do dia e que alteram os níveis de stocks definidos. Assim, com base nos stocks mínimos e máximos, o Sifarma 2000® gera propostas de encomendas que são analisadas pelo operador responsável por esta tipologia de encomendas. Ao ser uma proposta, o operador deve avaliar de forma crítica o volume de encomenda a ser aprovada. Uma forma de análise é através dos gráficos e cálculos disponíveis aquando da realização da encomenda, verificar se e quais reservas estão em curso e verificar as variações nas entradas e saídas de medicamentos nos períodos anteriores. É também importante verificar margens de lucro e condições por parte dos vários distribuidores disponíveis. Saber utilizar as ferramentas disponíveis garante uma correta gestão da logística.

- Encomenda Instantânea

Este tipo de encomenda surge quando, por exemplo, um utente procura determinado produto que não se encontra em stock na farmácia. Esta lacuna é devida à multiplicidade de laboratórios, à mais baixa rotatividade em relação a determinado produto, ao facto de se encontrar naquele dado momento esgotado ou indisponível, quando são produtos que já saíram da farmácia ao longo do dia e que ainda não foi gerada a encomenda diária e respetiva receção dos mesmos.

Ao utilizar as ferramentas de simulação do Sifarma 2000® conseguimos transmitir diversas informações ao utente no ato da dispensa. Assim, ao consultarmos as informações disponíveis conseguimos informar quanto à disponibilidade do medicamento ou produto, conseguimos indicar quando está previsto o mesmo estar disponível na farmácia, assim como um preço aproximado ou exato do mesmo.

É nesta fase que muitas vezes se mostra a importância em existir mais que um armazenista, uma vez que conseguimos comparar não só qual o que terá um custo mais baixo, mas também permite suprir as necessidades quando em algum dos armazenistas os produtos se encontram esgotados. Quando ocorre a situação de estar esgotado em ambos os armazenistas, a estratégia de resolução é confirmar através dos stocks remotos das farmácias dentro do grupo, se alguma tem o

medicamento pretendido disponível e existe a possibilidade ou de o utente o ir lá levantar ou ser transferido entre farmácias.

- Encomenda Manual

Já nas encomendas manuais, os produtos são encomendados diretamente aos laboratórios. Este tipo de encomendas surge com diferentes vantagens em termos de lucros para a farmácia, uma vez que, frequentemente, se conseguem melhores condições quando se compram produtos em maior escala e em maior número, por um custo mais baixo, servindo não só a FP como as outras farmácias do grupo.

- Encomenda Via Verde

Esta é feita quando um medicamento não está em stock na farmácia, é novo no mercado ou se encontra indisponível e o utente tem uma receita para o mesmo. Através do Sifarma 2000® é possível realizar uma encomenda do tipo instantânea, mas especial, onde introduzimos o número da receita em questão e desta forma garantimos que resolvemos a urgência dos utentes (todos exceto os rateados).

3.2. Devoluções

No caso em que a venda ou dispensa de determinado produto ou medicamento não possa ser realizada os produtos devem ser alvo de devolução. A devolução de medicamentos é efetuada com o apoio do Sifarma 2000®, como estratégia de gestão, destacando-se as seguintes situações:

- A embalagem encontra-se danificada, ou não cumpre com os requisitos de qualidade ao nível da sua apresentação para venda;
- Erro no pedido, quando a unidade foi encomendada por lapso ou tenha sido enviada sem ter sido encomendada;
- Fora de prazo, quando já se encontra fora de prazo ou quando o fim da validade está muito próximo.

Assim, é gerada uma nota de devolução e é efetuado um pedido de recolha ao fornecedor em causa. Neste contexto, a resolução normalmente passa pela recolha por parte do armazenista e consequente acerto de stock e faturação. Além disso, tanto pode existir uma disponibilização de crédito por parte do fornecedor, como forma de não prejudicar a farmácia, ou a substituição por outros produtos dentro do valor dos produtos devolvidos, não sendo necessariamente os mesmos.

3.3. Marcação de Preços

É importante a identificação dos preços e a sua marcação é influenciada pelos preços praticados pelos armazenistas e pelas margens de lucro dos fornecedores e retalhistas. Adicionalmente, aplicam-se as taxas de comercialização e imposto sobre o valor acrescentado (8,9).

De entre os diferentes produtos, existem os que são considerados de venda livre, onde a farmácia e/ou grupo de farmácias possui a liberdade de marcar o seu próprio preço. A marcação de preço deve ser uniforme, ter como base o PVF (Preço de Venda à Farmácia) e IVA (Imposto sobre o Valor Acrescentado) aplicados, assim como as margens de lucro praticadas pelo grupo. Para a consulta e a correta marcação de preços tem-se em consideração os stocks remotos, visíveis entre as farmácias do grupo através do Sifarma 2000® (10–12).

Uma vez que os medicamentos comparticipados estão regulados pelo INFARMED e a marcação dos preços já vem inscrita na cartonagem dos medicamentos, estes devem ser vendidos pelo preço indicado (10–12).

3.4. Acondicionamento

Após a receção de encomendas é fundamental o acondicionamento dos medicamentos a serem dispensados. Dada a sua importância, a FP dispõe de locais apropriados para o armazenamento de medicamentos, estando estes divididos em diferentes sectores.

Em termos de organização, grande parte dos medicamentos estão organizados em gavetas, estas com numeração própria. Cada um dos medicamentos é disposto por ordem alfabética, ordem crescente de posologia e agrupados por laboratório. Além da ordem alfabética, aplica-se o princípio de ordenação de acordo com o prazo de validade, pelo princípio “first-expired, first out”, de forma que sejam dispensados primeiro os que possuem prazo de validade mais curto. A localização de cada medicamento está adequadamente correspondente com a localização definida pelos utilizadores no Sifarma 2000®.

Outras localizações incluem os produtos topo (maior rotatividade), os produtos de grandes dimensões, os medicamentos com curto prazo de validade (6 meses até à data presente). Os medicamentos de dispensa mais frequente estão dispostos numa prateleira de fácil acesso, também pelo mesmo princípio dos medicamentos acondicionados nas gavetas.

A FP dispõe também de uma prateleira própria para os medicamentos de validade a expirar, organizados por ordem alfabética e de fácil acesso e no ato da dispensa cada utilizador consegue ver que a localização “VAL” está disponível e que devemos dar prioridade a esses.

3.4.1. Humidade e Temperatura

De forma a garantir o correto acondicionamento dos medicamentos, garantindo a sua estabilidade física e química, os medicamentos devem ser controlados quanto às suas condições de armazenamento na farmácia. Para isso, a FP dispõe de termohigrómetros dispostos em cada uma das localizações onde estão os produtos (frigorífico, armazém e área de atendimento). A cada semana, um responsável recolhe os valores referentes à humidade e temperaturas, e arquiva esses resultados em local apropriado. Todos os medicamentos que necessitem de temperaturas baixas devem ser armazenados entre 2 e 8 °C (13).

As oscilações verificadas pontualmente, mais concretamente referentes ao frigorífico, frequentemente se relacionam com algum tipo de arrumação/limpeza que tenham demorado mais tempo que o normal.

3.4.2. Controlo de Validades e Stocks

Mensalmente é emitida uma listagem para controlo dos prazos de validade, focando os últimos seis meses de validade. Efetua-se uma contagem física dos produtos com validade a expirar e os produtos são colocados em prateleiras de fácil acesso e correspondente ao mês de aproximação de final de prazo. Simultaneamente, esta verificação e alteração de localização dos produtos é registada no Sifarma 2000®, de modo a cada utilizador ter essa informação atualizada e proceder prioritariamente à dispensa dos mesmos.

Através desta lista é possível não só verificar quais os que se encontram com curto prazo de validade, mas também verificar os stocks existentes e, caso necessário, realizar a contagem física dos produtos. Nesta verificação contornam-se possíveis lapsos, que surgem por vários motivos, entre os quais se destacam a mudança no CNP (Código Nacional de Produto), inadequado acondicionamento dos medicamentos na localização devida, danificação de embalagens, entre outros.

3.4.3. Dispensa de Medicamentos

Com base no Estatuto do Medicamento, pelo Decreto-Lei nº 176/2006, de 30 de agosto, define-se medicamento como sendo “toda a substância ou conjunto de substâncias (...) possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças em seres humanos ou dos seus sintomas ou que possa ser utilizada ou administrada no ser humano com vista a estabelecer um diagnóstico médico ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas”. Esta definição abrange dois grandes grupos, os medicamentos sujeitos a receita médica e os medicamentos não sujeitos a receita médica (10,14).

3.4.4. Prescrições Médicas

Tradicionalmente conhecidas como receitas, as prescrições médicas são o documento que permite ao utente o acesso a determinados medicamentos, provando ter sido avaliados por um médico e cuja terapêutica a instituir deverá ser a inscrita. Das informações que uma receita possui, é função do farmacêutico verificar as mesmas, e ter um papel ativo na avaliação da prescrição, através da entrevista farmacêutica ao utente, analisando as suas necessidades e expectativas. De igual importância, o farmacêutico deve ser informativo quanto ao uso correto do medicamento, elucidando acerca da posologia, duração do tratamento, precauções e possíveis reações adversas (14).

Relativamente às linhas de prescrição, devem estar organizadas quanto à Denominação Comum Internacional (DCI), forma farmacêutica, posologia, modo de administração, número de unidades e, caso aplicável, despacho ou portaria particular acerca do regime de comparticipação adicional (14).

Cada receita médica deve conter ainda informações relativas ao prescriptor, local de prescrição, data de validade, número da receita e códigos únicos que apenas correspondam à prescrição em questão. Os vários elementos conferem legitimidade à receita (14).

As informações sobre o prescriptor são fundamentais na eventualidade do farmacêutico necessitar de contactar com o médico prescriptor e discutir a terapêutica instituída. Este tipo de comunicação surge frequentemente quando o farmacêutico suspeita de algum lapso médico, quer seja em termos legais, sobre o regime de comparticipação estar a ser adequadamente inscrito ou aplicável, quer pela terapêutica em si, quando suspeite que determinado fármaco possa ser potencialmente inadequado ao utente (14).

Existem diferentes tipos de receitas médicas, dividindo-se em receitas sem papel, receitas materializadas ou receitas prescritas por via manual. Cada uma delas é característica quanto aos elementos que garantem a sua validade assim como à quantidade de medicamentos permitidos por receita (14).

Adicionalmente, para casos de medicamentos sujeitos a controlo ou indicações especiais (psicotrópicos e estupefacientes, preparações e substâncias à base de planta de canábis para fins medicinais, medicamentos manipulados), estes devem seguir os seguintes pressupostos (14):

- a) Prescrição eletrónica materializada ou manual, o medicamento deve ser prescrito isoladamente, sem quaisquer outros medicamentos ou produtos, e ser indicado o tipo:
 - RE – Prescrição de psicotrópicos e estupefacientes sujeito a controlo;
 - MM – Prescrição de medicamentos manipulados.

- b) Prescrição eletrónica desmaterializada, deve indicar o tipo:
 - LE – Linha de prescrição de psicotrópicos e estupefacientes sujeito a controlo;
 - LMM – Linha de prescrição de medicamentos manipulados.

3.4.5. Prescrição Eletrónica

As receitas eletrónicas são, atualmente, as mais utilizadas. Estas podem ser Prescrições Eletrónicas Materializadas ou Prescrições Eletrónicas Desmaterializadas. Estas receitas são processadas eletronicamente e facilitam na autenticidade no ato da dispensa e agilizam os passos de contabilidade e conferência do receituário (14).

- Prescrição Eletrónica Desmaterializada

Relativo ao número de medicamentos por receita, cada receita contém um medicamento por linha de prescrição, e um máximo de:

- a) 2 embalagens, tratamento de curta a média duração, validade de 60 dias após emissão;
- b) 6 embalagens, tratamento de longa duração, validade 6 meses após emissão;
- c) 4 embalagens, se apresentação em embalagem unitária, ou até 12 se tratamento prolongado.

Quanto à validade da receita, esta pode ser estendida até 12 meses, sendo a justificação médica inscrita no processo do utente. As justificações são referentes: à posologia, ao se tratar de um doente crónico estabilizado, ao se deslocar do país ou outras situações. Dado o contexto da pandemia, durante o estágio tive contacto com algumas destas receitas com largo prazo de validade, referentes a tratamentos crónicos e permitiam ao doente menos deslocações até às unidades de saúde locais para a renovação do esquema terapêutico (14).

- Prescrição Eletrónica Materializada

Estas receitas têm uma validade de 30 dias após emissão, podendo ser renovável, com uma validade de 6 meses. Estão indicadas as renovações para tratamentos de longa duração, impressas em 3 vias, devendo ser inscritas as indicações da via a que corresponde. Cabe ao prescriptor validar cada uma delas conforme a duração do tratamento e/ou dimensão da embalagem (14).

Quanto ao número de medicamentos, podem ser apresentados 4 medicamentos e, em cada prescrição, um máximo de:

- a) 4 embalagens por receita;
- b) 2 embalagens por medicamento;
- c) 4 embalagens do mesmo medicamento, se apresentação unitária, ou 12 embalagens para tratamento prolongado, ao longo das 3 vias.

3.4.6. Prescrição Manual

Enquanto não é possível a desmaterialização e o total processamento eletrónico das prescrições médicas, as receitas manuais são utilizadas em situações excecionais, quando devidamente justificado. Dentro das possíveis justificações as mais frequentes são a falência informática ou a inadaptação do prescriptor às prescrições eletrónicas.

Este tipo de prescrição deve ainda, cumprir com as seguintes especificações:

1. Local de prescrição ou vinheta correspondente;
2. Vinheta do prescriptor;

3. Especialidade, se aplicável, e contacto;
4. Justificação do uso excecional do modelo manual, assinalada com cruz;
5. Identificação do utente: nome, número de utente, e número de beneficiário se aplicável;
6. Entidade financeira de acordo com o utente;
7. Indicação do regime especial de comparticipação, caso aplicável;
8. Medicamento(s): DCI, forma farmacêutica, dosagem, apresentação, posologia. O número de embalagens em cardinal e por extenso;
9. Despacho ou portaria referente ao regime especial de comparticipação, se aplicável;
10. Data de prescrição;
11. Assinatura do médico prescriptor.

As receitas manuais têm uma validade de 30 dias após emissão. Em termos de quantidade de medicamentos podem ser prescritas até 4 embalagens, podendo ser 2 de cada medicamento. No caso dos medicamentos que se apresentam em embalagem unitária podem ser prescritas até 4 embalagens do mesmo medicamento (14).

3.4.7. Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

Classificar um medicamento como sujeito a receita médica significa que o utente deve ter acesso ao mesmo com base numa avaliação e prescrição médica. Esta classificação é explicada pelo Artigo 114º do Decreto-Lei nº 176/2006, de 30 de agosto, dado um medicamento que:

- constitui um risco à saúde do doente, direta ou indiretamente, caso o seu uso não seja alvo de vigilância ao fim a que se destina;
- apresenta riscos à saúde do doente, direta ou indiretamente, se a frequência e quantidades não correspondem ao fim a que se destina;
- a sua atividade ou reações adversas devem ser monitorizadas;
- a via de administração é parentérica.

Adicionalmente, podem ser medicamentos de marca ou medicamentos genéricos. Os medicamentos de marca foram alvo de estudos farmacêuticos pré-clínicos e clínicos, e a sua autorização de introdução no mercado (AIM) foi baseada em documentação completa. Já os medicamentos genéricos foram alvo de ensaios de biodisponibilidade válidos e apresentam-se como bioequivalentes relativamente ao de referência (marca), tendo a mesma forma farmacêutica e composição quantitativa e qualitativa em substância(s) ativa(s) (10,14).

Podem ser distinguidos pela ausência de nome comercial e destaque à(s) substância(s) ativa(s), respetivo titular de AIM e dosagem (10,14).

3.4.8. Planos de Participação

Os planos de participação são legislados de acordo com diferentes escalões, onde cada regime de participação é característico de uma patologia ou grupos de patologias, constituindo-se como um apoio onde existe uma regulação e remuneração percentual ao utente. A Portaria 195-D/2015, de 30 de junho constitui uma lista das diversas classificações farmacoterapêuticas e escalões de participação a serem aplicados (14,15).

Assim, o Estado assume parte do PVP (Preço de Venda ao Público) dos medicamentos ao longo dos escalões:

- Escalão A: 90% do PVP do medicamento;
- Escalão B: 69% do PVP do medicamento;
- Escalão C: 37% do PVP do medicamento;
- Escalão D: 15% do PVP do medicamento;

Em regime especial entram os pensionistas e, adicionalmente o Estado participa mais 5% ao escalão A (95%). Quanto aos restantes escalões B, C, D o Estado participa 15% adicionais (14,15).

3.4.9. Medicamentos Sujeitos a Legislação Própria

Focando nas situações que constituem algum género de incapacidade e que constituem um peso a nível socioeconómico, existem patologias que estão abrangidas por regimes especiais e, deste modo, reguladas através de legislação adequada, permitindo um acesso mais facilitado e regulado ao medicamento de acordo com a situação em causa (16–19).

Assim, cada prescriptor deve ter em atenção à situação do utente, especificando o despacho ou portaria correspondente ao regime de participação a ser aplicado em cada linha de prescrição.

Dentro das diversas situações destacam-se, por exemplo:

- Lúpus, hemofilia e hemoglobinopatias, participação 100% (Despacho nº 11387-A/2003, de 23 de maio);
- Doença inflamatória intestinal (Despacho nº 1234/2007, de 25 de janeiro)
- Tratamento da dor crónica, não oncológica, moderada a forte: inclui fármacos tais como morfina, buprenorfina, tapendalol, associação oxicodona com naloxona (Portaria nº 329/2016, de 20 de dezembro);
- Artrite reumatóide e espondilite anquilosante: fármacos que incluam metotrexato (Portaria nº 281/2017, de 21 de setembro).

Tendo em consideração a região da Covilhã, muitos dos atuais pensionistas trabalharam para a Indústria de Lanifícios. Destes, os que tenham efetuado descontos para o Fundo Especial de Segurança Social do Pessoal da Indústria de Lanifícios, até 1984, estão abrangidos por uma comparticipação de 100% do PVP dos medicamentos comparticipados, ao abrigo da Portaria n.º 154/2018, de 28 de maio, que altera a Portaria n.º 287/2016, de 10 de novembro (20,21).

Relativamente aos medicamentos estupefacientes e psicotrópicos, por atuarem ao nível do sistema nervoso central e serem comumente associados a usos abusivos, ilegais ou associados ao consumo de drogas, a dispensa dos mesmos é sujeita a um controlo mais rigoroso que os restantes medicamentos. Consistente com o tipo de medicamentos em causa, a dispensa é efetuada ao abrigo de uma receita médica especial. Já na dispensa é necessário recolher e confirmar todas as informações relativas à identificação, contactos e local de residência do utente ao qual foi prescrito o medicamento e utente que levanta o medicamento. Este processo é obrigatório e o Sifarma 2000® não permite a dispensa sem o preenchimento de todos os campos informativos necessários. Com o terminar do atendimento, o Sifarma 2000® emite um documento identificativo do número de registo do medicamento estupefaciente ou psicotrópico, devendo este documento ficar arquivado na farmácia por um período de 3 anos (22,23).

Outro exemplo de situações que seguem um protocolo específico ao abrigo de legislação própria são os doentes diabéticos. Para a população diabética os equipamentos de medição da glicémia são gratuitos. Quanto aos restantes dispositivos necessários ao controlo da diabetes seguem o disposto no artigo 3º da Portaria 222/2014, de 4 de novembro, em que o valor da comparticipação é descrito por (24,25):

- a) Tiras de teste: comparticipação máxima de 85% do PVP;
- b) Agulhas, lancetas, seringas: comparticipação máxima de 100% do PVP.

3.4.10. Medicamentos Manipulados e Preparações Extemporâneas

Os medicamentos manipulados, como o próprio nome indica, exigem manipulação manual das matérias-primas na formulação do medicamento. Podem ser classificados em medicamentos manipulados magistrais, quando a sua formulação segue as indicações de uma receita médica endereçada a um doente; e manipulados officinais, quando a sua preparação segue as indicações de uma Farmacopeia ou de um Formulário Galénico (26).

Dado serem cada vez menos frequentes, todos os pedidos de medicamentos manipulados são encaminhados à Farmácia Diamantino, no Fundão, como forma de gerir da melhor forma os recursos e as matérias-primas.

Em termos de especificações, cada prescrição de medicamento manipulado deve conter informações relativas a: substância(s) ativa (s), forma farmacêutica, excipientes. Quanto à comparticipação a ser aplicada, genericamente são comparticipados todos os que não exista qualquer alternativa comercial ou seja necessária a adaptação a populações especiais como é o caso da pediatria e geriatria. O regime de comparticipação aplicável (30%) quanto a substâncias

ativas e formas farmacêuticas utilizadas está descrito no Despacho nº 18694/2010, de 18 de novembro (26,27).

Durante o estágio não tive oportunidade de acompanhar a preparação de medicamentos manipulados, mas tive a oportunidade de proceder à reconstituição de pós para suspensão oral, em antibióticos de uso pediátrico. Esta foi realizada com recurso a água destilada, perfazendo-se até ao volume de água indicado e posterior homogeneização, garantindo a separação de fases. Após a reconstituição, foi fundamental transmitir as informações relativas às condições de conservação, agitação prévia à administração, posologia e estabilidade da reconstituição (1).

3.4.11. Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM)

Os medicamentos não sujeitos a receita médica são todos os medicamentos cuja dispensa não necessita da apresentação de uma receita médica. A prática da automedicação está associada ao consumo dos MNSRM quer por procura ativa do utente, quer por indicação farmacêutica (10). Apesar de não necessitar obrigatoriamente de intervenção médica para a sua obtenção, a automedicação deve ser controlada quanto ao seu correto uso por parte dos profissionais de saúde. No contexto da farmácia comunitária, o aconselhamento deve passar por questionar e avaliar os problemas ligeiros a moderados de saúde, que possam ser resolvidos. O papel do farmacêutico é garantir que a automedicação é instituída de forma correta, prevenindo reações adversas e diagnósticos incorretos. Para isso, além dos conhecimentos científicos, os farmacêuticos seguem protocolos de aconselhamento e procedem à indicação dos medicamentos que se dividem em MNSRM e os Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica de dispensa Exclusiva em Farmácia (MNSRM-EF). Estão descritas as situações com resolução na automedicação e os MNSRM e MNSRM-EF no anexo do Despacho 17690/2007, de 23 de julho e Anexo I do Regulamento dos Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica de Dispensa Exclusiva em Farmácia (10,28).

Durante o estágio tive a oportunidade de ter contacto com as diversas situações que incluíram, por exemplo, dores ligeiras a moderadas, alergias sazonais, obstipação e diarreia.

Também tive contacto com novos produtos a serem introduzidos no mercado e apresentados por delegados comerciais. Dada uma das mais comuns situações ligeiras ser relativo a dor ligeira e enxaquecas, surgiu o novo Aspegic®, apresentando a conjugação de ibuprofeno e cafeína. A coadministração de ibuprofeno e cafeína, segundo estudos recentes, produziu resultados benéficos e superiores quanto ao grau de analgesia e diminuição da inflamação comparativamente ao ibuprofeno isolado, na concentração de 400 mg.

Além deste, pude assistir a uma formação sobre a dispensa de Claritine® (loratadina) em farmácia comunitária, por indicação farmacêutica. Este anti-histamínico foi alvo de estudos e o seu estatuto foi recentemente alterado para medicamento não sujeito a receita médica. Como consequência de uma margem de segurança elevada, pode ser utilizado a qualquer hora do dia sem produzir efeitos

de sonolência relevantes. A relevância deste medicamento passa pelo seu mecanismo, onde a loratadina, comparativamente à desloratadina, acaba por ter uma duração de ação mais prolongada devido ao seu metabolismo mais lento e conseqüente tempo de semivida mais elevado.

3.5 Outros produtos de saúde

3.5.1. Dispositivos Médicos

Com base na definição dada pelo Decreto-Lei nº 145/2009, de 17 de junho, um dispositivo médico é todo o produto utilizado para fins de diagnóstico, prevenção, controlo, para tratamento ou atenuação de uma doença, lesão, deficiência, com objetivo de estudo, substituição ou alteração anatómica ou de processo fisiológico, ou controlo de concepção. São classificados quanto a serem mais ou menos invasivos, tempo de contacto, zona anatómica onde atuam e riscos potenciais do seu uso (29).

No decorrer do estágio tive oportunidade de ter contacto com vários dispositivos, desde material ortopédico, termómetros, compressas e pensos, seringas. O aconselhamento farmacêutico realça-se na correta adequação de cada dispositivo às necessidades dos utentes. Um exemplo do papel ativo no aconselhamento é a procura pelo uso de meias de compressão ou descanso, onde se deve ter em atenção as devidas dimensões e correto grau de compressão.

3.5.2. Dermofarmácia e Cosmética

De acordo com a definição proposta pelo Decreto-Lei nº 189/2008, de 24 de setembro, considera-se um cosmético como uma substância, ou conjunto de substâncias, destinada a estar em contacto com as superfícies do corpo humano, ou com os dentes e mucosas bucais, com o objetivo de limpar, perfumar, modificar o seu aspeto, proteger ou manter em bom estado ou de corrigir odores corporais. Distingue-se de medicamento pelo seu uso e objetivo divergir de qualquer ação farmacológica (29).

Dos produtos disponíveis, apesar de serem de livre acesso aos utentes, a intervenção farmacêutica e o melhor aconselhamento fazem a diferença. Assim, é importante conseguir ajudar o utente na escolha de cada produto, questionando para que situação pretendem determinado produto. Muitos dos produtos, nomeadamente as diferentes emulsões, dividem-se em gamas adaptadas a determinado tipo de pele, seja pele mais seca ou mais oleosa. Dentro das linhas de produtos capilares, existem produtos mais indicados a fortalecimento e crescimento do cabelo, ao passo que outros são mais indicados a afeções do couro cabeludo como dermatite seborreica.

Na FP destacam-se produtos da A-derma®, Bioderma®, Avène®, Caudalie® e Neutrogena®. Estas marcas, durante o decorrer do meu estágio, eram muito procuradas no controlo da dermatite atópica e rosácea, proteção solar, produtos perfumantes e desmaquilhantes e hidratação corporal.

3.5.3. Higiene Oral

De entre os produtos de higiene oral podemos destacar os elixires para higiene oral, pastas de dentes, pastas para fixação de placas dentárias, produtos para tratamento de aftas. Nesta farmácia, os produtos mais frequentemente dispensados são os fixadores de placas e os colutórios. Muitos dos produtos são recomendados por médicos dentistas em funções em clínicas médico dentárias da zona, e os utentes geralmente procuram este tipo de produtos já com uma ideia do que pretendem.

Dentro da gama de higiene oral, tive também oportunidade de assistir a exposições por parte de delegados comerciais, particularmente acerca da analgesia e tratamento de afeções bucais de grau ligeiro com recurso a Diclodent®. Nesta exposição, indicou-se o Diclodent® e a ação do diclofenac, como sendo vantajoso pela sua ação analgesia e anti-inflamatória a baixa concentração.

3.5.4. Suplementos Alimentares e Fitoterapia

Ao abrigo do Decreto-Lei nº 136/2003, de 28 de junho, os suplementos alimentares constituem fontes de nutrientes ou substâncias com efeito fisiológico ou nutricional com o objetivo de complementar ou servir de suplemento a uma dieta ou regime alimentar normal, não devendo ser substitutivos de uma dieta variada. Muitos destes têm sido procurados em farmácia com objetivo de fortalecer o sistema imunitário, como é exemplo a vitamina C, ou mesmo complexos multivitamínicos. Outro tipo de suplementos muito procurados são os suplementos que auxiliam em termos energéticos e de concentração no estudo e nas atividades diárias. É de realçar o papel do farmacêutico no correto uso destes, elucidando que a sua ação frequentemente não produz efeitos imediatos (30).

Quanto à fitoterapia, os medicamentos à base de plantas estão descritos pelo Decreto-Lei nº 176/2006, de 30 de agosto. Estes são qualquer medicamento que contenha exclusivamente substâncias ativas com origem em plantas ou à base em plantas. Dos mais procurados incluem-se substâncias com o objetivo de atuar como substâncias ansiolíticas, em alívio do stress, ou atuando como facilitadores do sono. Outros produtos à base de arando ou uva ursina são frequentemente utilizados no alívio da sintomatologia associada a infeções urinárias (10).

3.5.5. Nutrição e Alimentação Especial

Segundo o que consta no Decreto-Lei nº 74/2010, de 21 de junho, os produtos para alimentação especial sofrem processos de fabrico diferenciados dos restantes alimentos e uma composição adaptada a situações de (31):

- Má absorção, ingestão, digestão, metabolismo ou excreção alterados;
- Condições fisiológicas que necessitem de controlo, quanto ao consumo de determinadas substâncias;
- Adaptações nutricionais em crianças e lactentes;
- Necessidades especiais em idosos.

Neste sentido, as farmácias devem dispor destes produtos, que são muitas vezes procurados em particular em lactentes, cujas fontes nutricionais são predominantemente os leites em pó.

Além destes, existem produtos que se apresentam sob a forma líquida ou em pó, constituem, sob supervisão, uma alternativa, equiparando-se a refeições completas dada a sua composição. Destacam-se os produtos destinados a situações que incluem doentes oncológicos, diabéticos, pessoas com anorexia, por exemplo. Para isso, foram desenvolvidas várias gamas que incluem combinações hiper/hipocalóricas e hiper/hipoproteicas. A FP dispõe de produtos comercializados pela Nestlé®, mais concretamente as gamas Meritene e Resource, estando também disponíveis outras opções, caso o utente efetue o pedido para encomenda.

3.5.6. Medicamentos de Uso Veterinário

Em consistência com o descrito no Decreto-Lei nº 148/2008, de 29 de julho, os medicamentos de uso veterinário acompanham a definição de medicamento, pelo estatuto do medicamento, mas no caso aplicável particulariza a administração num animal (31).

Dos mais procurados incluem-se os desparasitantes, tanto internos como externos, onde o papel do farmacêutico é fundamental na escolha do medicamento certo, para o animal certo, em particular focando qual a espécie a que se destina, qual a idade e o peso do animal. Além dos medicamentos de uso veterinário, pode contactar com a realidade de existirem determinados medicamentos de uso humano, cuja substância ativa é utilizada com determinado objetivo, mas que em animais o seu uso aplica-se em patologias diferentes. Exemplo disto é o uso de alopurinol, tradicionalmente utilizado no tratamento de gota em humanos, é utilizado em animais no tratamento de leishmaniose.

4. Programas de Recolha

- Valormed

Criado em 1999 e sem fins lucrativos, o Programa Valormed surge como uma forma de processamento de medicamentos inutilizados ou fora de validade. Estes são entregues à farmácia por parte dos utentes e, desta forma, garante-se uma correta gestão de resíduos. A Valormed disponibiliza contentores próprios, onde devem ser colocadas as embalagens ou blisters de medicamentos fora de uso, não estando incluídos dispositivos cortantes ou perfurantes, tais como agulhas (32).

- Programa de Troca de Seringas nas Farmácias (PTS)

Este é um programa que disponibiliza seringas “troca por troca”. Aos interessados, é pedido que entreguem duas seringas e as depositem no contentor de seringas da farmácia e em troca é entregue um kit que inclui material de injeção, higiene e contraceção (2 seringas, 2 toalhetes, 2 ampolas de água bidestilada, 2 carteiras com ácido cítrico, 2 filtros, 2 recipientes e 1 preservativo). Este programa tem como objetivo a prevenção e controlo da propagação de doenças dentro da população toxicodependente, diminuir a troca de seringas entre utilizadores, assim como o abandono de seringas na via pública ou em local inapropriado (33).

- Campanha de Recolha de Radiografias

Este programa está ao abrigo da AMI (Assistência Médica Internacional). As radiografias podem ser entregues nas farmácias comunitárias, particularmente quando já não possuem valor como elementos de diagnóstico. Este programa contribui para a correta gestão de resíduos e reaproveitamento da prata como fonte de receita para a realização de campanhas sociais promovidas pela AMI (34).

5. Cuidados e Serviços de Saúde Prestados

Como forma complementar ao atendimento e dispensa ao balcão, com recurso aos gabinetes de atendimento personalizado, nas farmácias Holon existem serviços disponíveis onde existe o aconselhamento de medicamentos e produtos de saúde. Os Serviços Farmacêuticos servem o utente na promoção da saúde e estão enquadrados nas funções e serviços que podem ser praticadas nas farmácias como espaço de saúde (3,6,35,36).

Entre os serviços com mais relevância para a valorização da atividade do farmacêutico encontram-se a Consulta Farmacêutica Holon e o Serviço Holon de Preparação Individualizada da Medicação. Estes serviços são fundamentais na identificação de problemas relacionados com os medicamentos. Através da consulta farmacêutica todo o esquema terapêutico do utente é avaliado quanto à correta adesão à terapêutica, possíveis reações adversas, e se devem ser praticadas medidas no sentido de se obterem melhores resultados. O Serviço de Preparação Individualizada da Medicação tem como objetivo colmatar as ditas dificuldades dos utentes, organizando-se todo o esquema terapêutico em blisters personalizados de acordo com as necessidades. Durante o meu estágio não tive oportunidade de assistir à prática destes serviços.

Dos serviços prestados na FP destacam-se os mais procurados: Serviço Check Saúde, Serviço de Nutrição Holon, Serviços de Podologia e do Pé Diabético Holon, Serviço de Dermofarmácia Holon.

Outros serviços que já estiveram disponíveis nas farmácias Holon e que dado ao contexto pandémico foram suspensos são a avaliação da função respiratória e serviço de reabilitação auditiva.

5.1. Serviço Check Saúde

No serviço Check Saúde é efetuada a determinação de parâmetros bioquímicos tais como colesterol total e HDL, glicémia capilar, ácido úrico e triglicéridos. Além destes é medida também a tensão arterial.

Este serviço é acessível e muito procurado, sendo a hipertensão arterial, dislipidemia e diabetes as patologias mais prevalentes nos utentes. A prática deste serviço demonstra-se útil na monitorização das patologias, verificação da efetividade terapêutica, aconselhamento e referenciação médica, sendo realizado nos gabinetes de atendimento personalizado e seguindo normas orientadoras quanto aos valores das determinações efetuadas (37,38).

Durante o meu estágio tive a oportunidade de realizar determinações dos diferentes parâmetros do serviço check-saúde, à exceção da determinação de ácido úrico.

5.2. Serviço Holon de Administração de Vacinas e Injetáveis

O serviço de administração de vacinas e injetáveis complementa a vacinação não incluída no Plano Nacional de Vacinação e que pode ser realizado em farmácias comunitárias por pessoal com a devida certificação (39,40).

Na FP existem dois profissionais farmacêuticos certificados e garantem o funcionamento deste serviço. Dada a época em que estagiei, não tive oportunidade de assistir à vacinação contra a gripe sazonal. No entanto, este serviço foi bastante procurado em termos de vacinação contra dor e inflamação, sendo frequente a administração de anti-inflamatórios em injetáveis intramusculares. Para cada administração é importante ter em conta os registos a serem efetuados, nomeadamente os dados do utente, outras vacinas administradas, lote e validade do injetável, via de administração e identificação de quem procede à administração (39,40).

O gabinete onde ocorre o serviço está preparado para a eventualidade de ocorrer alguma reação anafilática, estando disponíveis canetas de adrenalina e uma botija de oxigénio (39,40).

5.3. Serviço de Nutrição Holon

É um dos serviços mais procurados nas farmácias do grupo. Muitas vezes existe a dificuldade de marcação de consultas devido à elevada procura por este serviço. A consulta de nutrição Holon é também recomendada pelos farmacêuticos aquando da identificação de fatores de risco relacionados com maus hábitos de alimentação.

A consulta de Nutrição Holon conta com a colaboração de nutricionistas. Além dos objetivos de melhoria estética, este serviço resolve os demais problemas de saúde, na procura de restabelecer os valores fisiológicos de colesterol ou glicémia, por exemplo.

Neste tipo de serviço especializado existe uma avaliação inicial e consultas de acompanhamento, onde cada utente é avaliado quanto às suas características antropométricas, prática de atividade física ou sedentarismo. Após a avaliação cada utente tem um plano alimentar definido e adaptado às suas necessidades.

5.4. Serviços de Podologia e do Pé Diabético Holon

Com a colaboração de podologistas e enfermeiros, nas farmácias Holon existem outros serviços que vão além da dispensa e aconselhamento de medicamentos e produtos de saúde.

No serviço de podologia os utentes procuram a resolução de problemas relacionados com as unhas, desde unhas encravadas a infeções fúngicas, tratamento de calosidades e correção plantar. O podologista responsável pela avaliação dos utentes verifica se os problemas de saúde relacionados com os pés são de resolução dentro das suas competências, se necessita de nova

avaliação ou acompanhamento futuro, ou se necessitam de vigilância médica, encaminhando-se algumas situações a consultas de ortopedia, por exemplo.

Relativamente à consulta do pé diabético, esta é realizada por um enfermeiro especializado em avaliação do pé diabético. Neste serviço são feitos testes relativos à sensibilidade dos pés de doentes com diabetes e avaliação de neuropatia diabética, assim como rastreio de eventuais lesões e feridas que são muitas vezes associadas a este tipo de doentes.

5.5. Serviço de Dermofarmácia Holon

O serviço de dermofarmácia conta com a colaboração de uma farmacêutica que realiza avaliações da pele. Com recurso a um equipamento, na consulta de dermofarmácia é possível verificar com maior ampliação a pele, as suas lesões, e avaliar a pele quanto ao seu nível de hidratação e conteúdo lipídico. A par da avaliação segue-se o aconselhamento dos produtos de dermofarmácia e cosmética mais adequados ao utente, assim como encaminhamento a consultas de dermatologia, quando aplicável.

Das situações mais frequentes incluem-se problemas relacionados com acne, dermatite atópica e seborreica. Este serviço tem-se mostrado útil na manutenção de hábitos de hidratação da pele e correção de afeções ligeiras relativas à pele e cabelo.

6. Farmacovigilância

A farmacovigilância constitui-se como a monitorização dos medicamentos após serem comercializados. Apesar de toda a regulamentação prévia à sua introdução no mercado, os fármacos estão frequentemente associados a reações adversas, interações e vários problemas relacionados com os medicamentos. Estas situações são comumente descritas como sendo reações adversas aos medicamentos (RAM) e podem ser notificadas ao Sistema Nacional de Farmacovigilância (SNF). Este sistema funciona a nível nacional, articulado por nove Unidades Regionais de Farmacovigilância (41).

Em termos de notificação, qualquer pessoa pode proceder à notificação de uma RAM, através do portal de notificação de reações adversas. Este possui as indicações necessárias a uma correta formalização da notificação e apresenta um nível de complexidade superior quando é preenchido por um profissional de saúde. Esta complexidade é justificada pelas competências dos profissionais de saúde em transmitirem dados mais completos e científicos relativos a cada situação (41).

Apesar de não ter tido oportunidade de assistir a nenhuma notificação de RAM por parte dos utentes e consequente formalização da notificação, a FP foi contactada por parte de algumas entidades para participação em estudos de farmacovigilância. Cada responsável pelo estudo contactava os utentes e procedia à aplicação de questionários, medição dos parâmetros necessários e preenchimento de formulários.

7. Processamento do Receituário e Faturação

Receituário e Faturação

Para que o valor monetário das comparticipações seja recuperado por parte das farmácias, as mesmas devem organizar e compilar as diversas receitas dispensadas ao longo dos atendimentos. O processamento das receitas eletrónicas desmaterializadas é feito de forma automática pelo Sifarma 2000®. Os diferentes lotes fecham à meia-noite do último dia do mês e no início do período seguinte é gerada uma nova sequência de lotes. Em termos de análise, é necessário confirmar a contagem do receituário e verificar se não existem erros de processamento.

Uma vez que as receitas materializadas e manuais não são automaticamente processadas em termos de contabilidade, estas devem ser duplamente conferidas e agrupadas.

Relativamente às receitas manuais, estas devem ser cautelosamente verificadas quanto aos diversos elementos que garantem que esta é válida (identificação, assinatura e vinheta do médico prescriptor, local, nome e número de utente, organismo e número de beneficiário, data). Além da validade da receita é fundamental garantir que os medicamentos dispensados correspondem ao prescrito, se cumprem o enquadramento legal quanto ao número de unidades prescritas e dispensadas, se não existem quaisquer rasuras, se o utente assinou a receita no ato da dispensa, a presença da data da dispensa e assinatura do farmacêutico que procedeu à dispensa e carimbo da farmácia.

Nas receitas eletrónicas materializadas verificam-se os elementos de validade aplicáveis (medicamentos dispensados, número da receita, assinaturas do médico, utente e farmacêutico, data de dispensa, carimbo da farmácia).

Para a organização e faturação do receituário existem procedimentos bem definidos.

Em primeiro lugar, as receitas devem ser agrupadas por organismo e por lotes de 30 receitas. A cada lote está associado o respetivo verbete (Verbetes de Identificação do Lote). Neste, o valor deve ser verificado e carimbado. Estes documentos são informativos quanto ao número de receitas e valores das comparticipações de acordo com o organismo competente.

Em termos de faturação, no início de cada mês e referentes ao mês anterior, devem ser agrupadas as receitas e respetivos verbetes e devem ser emitidos documentos (Faturas, Relação Resumo de Lotes) de acordo com as entidades:

- Serviço Nacional de Saúde: fatura emitida pelo Sifarma 2000®. Na geração da fatura o sistema produz um documento, Relação Resumo de Lotes (RRL) de acordo com cada organismo (em duplicado), seguindo-se a fatura (em quadruplicado) e a Guia de Fatura. Estes devem ser datados, assinados e carimbados. É também gerada uma guia CTT (Correios de Portugal) para envio ao Centro de Conferências de Faturas (CCF);
- Restantes Entidades - ANF: deve-se emitir fatura para cada um dos restantes organismos, sendo que o Sifarma 2000® antes de gerar a fatura emite a RRL (em quadruplicado) e, de seguida, a fatura (em quadruplicado). A fatura deve, de igual forma, ser datada, assinada e carimbada.

Os diversos elementos, com destaque às faturas, RRL e verbetes, são organizados e separados em envelopes ou caixas de tamanho apropriado, é disposta a guia de recolha CTT e os documentos são enviados ao SNS e à ANF. Os documentos que são remetidos à contabilidade ficam à responsabilidade da direção técnica e incluem as faturas, RRL e mapas comprovativos de entrega.

Fim do dia e fecho de caixa

Relativamente ao final de cada dia e valor total de caixa, o funcionário que fica responsável pelo fecho da farmácia deve conferir os valores totais de caixa e multibanco. A contagem total deve discriminar tanto o valor total em caixa como o valor em movimentos realizados pelos terminais de multibanco, sendo anotados, somados e comparados com a contagem feita pelo próprio Sifarma 2000®. O balanço geral deve ser igual e, caso não seja, devem-se verificar quais as razões pelas quais os montantes não coincidem e reportar todas as situações à direção técnica, caso aplicável.

8. Saúde na Comunidade

Durante o estágio tive oportunidade de ser interventivo também fora do espaço da farmácia e destaque o “Programa de Testagem CVP – Ensino Superior” na UBI, o programa de rastreios efetuado na empresa J3LP (Fundão) e a Avaliação do Risco Cardiovascular na sede da Cerzir Afetos (Boidobra).

8.1. Programa de Testagem CVP – Ensino Superior

Este programa surgiu na UBI, coordenado pela Cruz Vermelha Portuguesa em articulação com a DGS (Direção Geral da Saúde) e DGES (Direção Geral do Ensino Superior) e funcionou de forma gratuita como mecanismo de prevenção e controlo da pandemia ao nível do Ensino Superior Universitário, na retoma das atividades letivas presenciais.

Considerarei a participação da UBI neste programa favorável e juntei-me de forma voluntária na colaboração no projeto, prestando apoio técnico juntamente a outros colegas de faculdade e profissionais de saúde.

O programa decorreu nas várias faculdades e instalações da UBI, por forma a promover a participação do máximo número de alunos, investigadores, docentes e não docentes afiliados à UBI.

Para se proceder ao rastreio, cada profissional obteve formação pela Cruz Vermelha para a realização de testes rápidos de antigénio (TRAg) para o Sars-Cov-2. Foram devidamente estabelecidos os circuitos da testagem e foi disponibilizado todo o equipamento de proteção, colheita de exsudado nasofaríngeo e análise de resultados.

Primeiramente, cada pessoa que pretendesse ser alvo do rastreio teria que preencher um formulário com as suas informações, onde na generalidade se pretendia saber qual a sua função na UBI (aluno, docente ou funcionário) e ter uma noção do número de pessoas que estariam presentes à data, de forma a organizar devidamente as escalas de pessoal necessário e que materiais seriam necessários. No dia da testagem, cada um deveria ser portador do formulário de inscrição, confirmando-se a presença da pessoa a ser analisada e codificando-se os seus dados para a forma anónima, desde a zona administrativa à zona de divulgação de resultados.

8.2. Rastreios J3LP

A J3LP é uma indústria de produtos metálicos localizada no Fundão. Como resultado de uma colaboração entre as farmácias Holon e esta indústria realizou-se um rastreio aos trabalhadores da mesma. O rastreio focou a avaliação do risco de contrair diabetes em 10 anos. Serviu também como forma de divulgação dos serviços praticados nas farmácias.

No decorrer de dois dias, contou-se com a colaboração dos estudantes estagiários nas farmácias Holon locais e uma equipa de enfermeiros e podologistas. Por parte dos enfermeiros e podologistas foram realizados testes relacionados com os problemas associados aos pés. Já os estudantes estagiários aplicaram os conhecimentos e experiência obtidos ao longo da formação académica e estágio curricular. Neste âmbito, foram realizados inquéritos quanto aos hábitos alimentares, prática de atividade física, histórico de diabetes familiar e presença de comorbilidades. De seguida, o rastreio consistiu na avaliação da tensão arterial, glicémia capilar e medições antropométricas com vista ao cálculo do IMC e estimativas de risco.

Considero que este rastreio consolidou a experiência obtida aquando da realização das medições efetuadas em farmácia comunitária, no serviço check-saúde.

8.3. Avaliação do Risco Cardiovascular – Cerzir Afetos

Este projeto funcionou como parte da parceria entre as Farmácias Holon e a Cerzir Afetos – IPSS da Boidobra. Foram efetuados rastreios de avaliação do risco cardiovascular em utentes locais, tendo sido efetuado o teste do colesterol total e medição da tensão arterial. Além desta avaliação também foi aplicado um questionário focando os estilos de vida, motivando a prática de atividade física e hábitos de alimentação saudável. Neste rastreio o nosso papel passou também pela divulgação dos serviços disponíveis nas farmácias Holon.

Este rastreio contou com a presença de vários utentes que esgotaram as inscrições. Na sua generalidade foi possível caracterizar os utentes como estando bem acompanhados na prevenção e controlo das doenças cardiovasculares.

8. Conclusão

Considero que a experiência obtida ao longo do estágio em Farmácia Comunitária é um forte complemento à formação académica contemplada ao longo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Desde os primeiros dias até ao último, cada dia se apresentou como um desafio, com imensa informação nova a reter, novas aprendizagens, novas metas de crescimento.

Na formação como futuro farmacêutico foi enriquecedor viver o “passo a passo” da atividade farmacêutica. Comecei pela receção de encomendas, pelo acondicionamento dos medicamentos e restantes produtos, tive contacto com toda a logística e, por fim, fui sendo introduzido ao contacto com os utentes e a toda a envolvimento do atendimento.

Em termos académicos, é fundamental a aquisição de todo o conhecimento teórico, mas mais importante foi a aprendizagem que obtive quer em termos de organização, quer em termos de comunicação com o utente. Tendo em conta a responsabilidade como profissional de saúde, para mim foi importante reaprender a comunicar com os utentes, adaptar o discurso ao utente que se apresentava a mim, desenvolver ainda mais a escuta ativa e adotar um papel mais proativo na resolução dos vários problemas.

Ser farmacêutico comunitário, para mim, é ter a sensibilidade de saber ou procurar resolver os problemas de saúde, desde os mais ligeiros aos que podem constituir quadros de gravidade superior. Ser farmacêutico é saber ajudar o utente e prestar os melhores cuidados que estiverem ao meu alcance. Para tal, o estágio foi um estímulo para continuar a evoluir e a manter-me em constante atualização.

À equipa da Farmácia Pedroso endereço os meus mais sinceros agradecimentos, todos estiveram inteiramente disponíveis para me ajudar e transmitir conhecimentos valiosos.

9. Bibliografia

1. Ordem dos Farmacêuticos. Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária (BPF). Cons Nac da Qualidade, 3ª edição. 2009;3ªEdição:53.
2. Farmácias Holon. Quem somos | Farmácias Holon [Internet]. Disponível a 21/09/2021 em: <https://www.farmaciasholon.pt/quem-somos>
3. Ministério da Saúde. Decreto-Lei 307/2007, de 31 de agosto. 2007;
4. Ministério da Saúde. Portaria n.º 277/2012, de 12 de setembro. 2012;
5. Ministério da Saúde. Portaria n.º 14/2013, de 11 de Janeiro. 2013;
6. Ministério da Saúde. Decreto-Lei 75/2016, de 8 de novembro. 2016;
7. Glintt. Sifarma [Internet]. Disponível a 21/09/2021 em: <https://www.glintt.com/pt/o-que-fazemos/ofertas/SoftwareSolutions/Paginas/Sifarma.aspx>
8. Ministério da Saúde. Decreto-Lei nº 48-A/2010, de 13 de maio. 2010;
9. Ministério da Saúde. Legislação Compilada, Decreto-Lei n.º 97/2015 , de 1 de junho. 2015;
10. Ministério da Saúde. Decreto-Lei nº 176/2006, de 30 de agosto. 2006;
11. Ministério da Saúde. Decreto Lei nº 20/2013. Diário da República 1ª série. 2013;
12. Ministério da Saúde. Portaria n.º 195-C/2015, de 30 de junho. 2015;
13. Infarmed. Conservação Medicamentos Calor - INFARMED, I.P. [Internet]. 2016. Disponível a 13/09/2021 em: https://www.infarmed.pt/web/infarmed/profissionais-de-saude/prescricao-e-dispensa/medicamentos_e_calor/conservacao_medicamentos_calor
14. ACSS/INFARMED. Normas relativas à dispensa de medicamentos e produtos de saúde. Ministério da Saúde. 2014;
15. INFARMED I.P. - Gabinete Jurídico e Contencioso. Secção VI, 4542-(11). 2015;
16. Ministério da Saúde. Despacho n.º 11387-A/2003, de 23 de Maio. 2003;
17. Ministério da Saúde. Despacho n.º 1234/2007. 2007;
18. Ministério da Saúde. Portaria n.º 329/2016, de 20 de dezembro. 2013;
19. Assembleia da República. Portaria nº 281/2017, de 21 de setembro. 2013;

20. Assembleia da República. Portaria n.º 287/2016, de 10 de novembro. 2017;
21. Diário da República. Portaria n.º 154/2018, de 28 de maio. 2017;
22. Ministério da Justiça. Decreto-Lei n.º 15/93, de 22 de janeiro. 1993;
23. Assembleia da República. Lei n.º 15/2020, de 29 de maio. 2020;
24. Ministério da Saúde. Portaria n.º 35/2016, de 1 de março. 2016.
25. Diário da República. Portaria n.º 15/2018, de 11 de janeiro. 2018;
26. Medicamentos manipulados - INFARMED, I.P. [Internet]. Disponível a 16/09/2021 em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/inspecao-medicamentos/medicamentos-manipulados>
27. Ministério da Saúde. Despacho n.º 18694/2010. 2010;
28. Ministério da Saúde. Despacho n.º 17690/2007. 2007;
29. Ministério da Saúde. Decreto-Lei n.º 145/2009, de 17 de junho. 2009;
30. Ministério da Saúde. Decreto-Lei n.º 136/2003, de 28 de junho. 2003;
31. Ministério da Agricultura do DR e das P. Decreto-Lei n.º 74/2010, de 21 de junho. 2010;
32. Quem somos :: ValorMed [Internet]. Disponível a 16/09/2021 em: <http://www.valormed.pt/paginas/2/quem-somos/>
33. SNS. Programa de Troca de Seringas – SNS [Internet]. Disponível a 16/09/2021 em: <https://www.sns.gov.pt/noticias/2016/09/02/programa-de-troca-de-seringas/>
34. Assistência Médica Internacional. Reciclar Radiografias por um Mundo Melhor [Internet]. Disponível a 16/09/2021 em: <https://ami.org.pt/blog/reciclar-radiografias-por-um-mundo-melhor/>
35. Ministério da Saúde. Portaria n.º 1429/2007, de 2 de novembro. 2007;
36. Ministério da Saúde. Portaria n.º 97/2018, de 09 de abril. 2018;
37. Direção-Geral da Saúde. Programa Nacional de Prevenção e Controlo da Diabetes. 1995;1–6.
38. Cosentino F, Grant PJ, Aboyans V, Bailey CJ, Ceriello A, Delgado V, et al. 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. Eur Heart J. 2020;41(2):255–323.

39. INFARMED I.P. - Gabinete Jurídico e Contencioso. Deliberação n.º145/CD/2010. Legis Farm Compil. 2010;
40. INFARMED I.P. - Gabinete Jurídico e Contencioso. Deliberação n.º139/CD/2010. Legislação Farmacêutica Compilada 2010.
41. INFARMED I. Farmacovigilância - FAQ [Internet]. Disponível a 21/09/2021 em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/faq>

Apêndice 1 – Poster apresentado no “XVI CICS-UBI Symposium”

Serum ApoE Quantifications in Elders From Long-Term Care Facilities of Beira Interior Correlate With Stroke Risk Parameters

Júlio Mendonça^{1(*)}, Nádía Oliveira¹, Ignacio Verde^{1,2}

¹ CICS-UBI, Centro de Investigação em Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal
² Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior

Background

Stroke is influenced by a combination of multiple risk factors. These include cardiovascular and metabolic co-morbidities, unbalanced diet and sedentary lifestyles. In this study we used Framingham Stroke Risk Score as a predictive tool and quantified ApoE serum levels in EBICohort (Elderly of Beira Interior cohort) by Sandwich ELISA. The main goal was to find a correlation between known stroke risk factors and serum ApoE concentrations.

Methods

1. Gathering of clinical data from elders (EBICohort).
2. Assessment for Framingham Stroke Risk Score
3. Quantification of ApoE through ELISA sandwich technic.
4. Data analysis by Multiple Linear Regression and One way ANOVA.

Results

Table 1. Population Characterization. The study groups were made based on the stroke risk score given by Framingham's formula. BP = blood pressure; Normal BP, <129mmHg; Normal-High BP, 130-139 mmHg; hypertension, up to 140mmHg.

	Normal Risk n=10 28.6%	Low Risk n=9 25.7%	Moderate Risk n=7 20.0%	High Risk n=9 25.7%
Gender				
Female	4 (40.0%)	4 (44.4%)	5 (71.4%)	7 (77.8%)
Male	6 (60.0%)	5 (55.6%)	2 (28.3%)	2 (22.2%)
Age	75.20 ± 2.53	80.89 ± 2.87	81.71 ± 2.58	90.89 ± 1.48
Age Group				
65-74 years	6 (60.0%)	3 (33.3%)	1 (14.3%)	0
75-84 years	2 (20.0%)	4 (44.4%)	4 (57.1%)	0
up to 85 years	2 (20.0%)	2 (22.2%)	2 (28.6%)	9 (100%)
Systolic BP	125.56 ± 7.53	116.00 ± 7.65	125.67 ± 12.39	133.00 ± 7.81
Antihypert. therapy	5 (50.0%)	7 (77.8%)	6 (85.7%)	9 (100%)
Atrial Fibrillation	0	1 (11.1%)	3 (42.9%)	6 (66.7%)
Congestive Heart Failure	0	0	2 (28.6%)	7 (77.8%)
Diabetes	4 (44.4%)	2 (22.2%)	3 (42.9%)	3 (33.3%)

Table 2. ApoE Model. Significant correlation between Apolipoprotein E serum levels and Framingham Stroke Risk Score variables.

ApoE Model	Unstandardized Coefficients	Error	Standardized Coefficients	t	P-value
Constant	-299.343	86.951		-3.443	0.005
Age	3.149	0.628	1.166	5.010	<0.001
Gender	23.712	11.317	0.451	2.095	0.060
BMI	-3.268	1.019	-0.579	-3.228	0.008
Total Cholesterol (mg/dL)	0.211	0.132	0.290	1.601	0.138
HDL (mg/dL)	2.056	0.625	0.972	3.288	0.007
Triglycerides (mg/dL)	0.497	0.193	0.887	2.581	0.026
FBSG	-0.662	0.242	-0.482	-2.739	0.019

Table 3. ApoE Multiple Linear Regression Model.

Model	R	R ²	Adjusted R ²	Standard Deviation	P-value
ApoE (ug/mL)	0.905*	0.819	0.704	14.16	0.002

* Dependent variable: ApoE (ug/mL)
Predictors: (constant), age, gender, BMI, Total cholesterol HDL, Triglycerides, FBSG.

- References:**
1. WHO. WHO EHRO | Stroke, Cardiovascular accident | Health topics [Internet]. 2018 [cited 2021 Sep 27]; p. 1. Available from: <http://www.who.int/health-topics/stroke-cardiovascular-accident/stroke>
 2. Jiangrui L, Feifang XG. Issues of Framingham risk score for estimation of 10-years of cardiovascular disease risk in patients with metabolic syndrome. J Natl Regal Med. 2017;36:11-6.

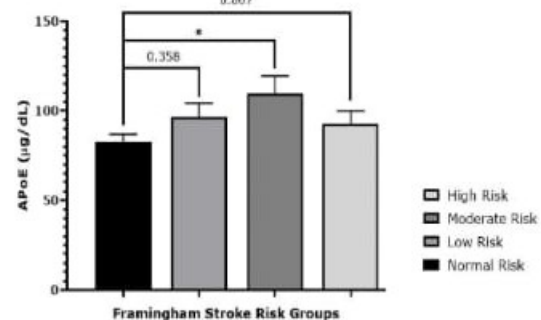


Figure 1. ApoE quantifications show significant correlation between Framingham Stroke Risk Score (Normal Risk vs Moderate Risk), based on multiple comparison (One-way ANOVA followed by post-hoc Dunnnett's test, P-value=0.040)

Conclusions

- Framingham Stroke Risk Score works as a predictive tool for disease onset.
- Lipoproteic molecules are involved in cardiovascular diseases, particularly stroke.
- Apolipoprotein E correlates with stroke known risk factors and may be applicable for further vascular diseases studies.
- All parameters but total cholesterol show statistical significance.
- The MLR predictors explain 70.4% of the variation that occurs with ApoE.

Acknowledgments

The authors thank LTCF staff that collaborated in this study and the elder volunteers. This work was partially supported by "Programa Operacional do Centro, Centro 2020" through the funding of the ICON project (Interdisciplinary Challenges On Neurodegeneration; CENTRO-01-0145-FEDER-000013).