



RELATÓRIO DE ESTÁGIO

REALIZADO NO ÂMBITO DO MESTRADO INTEGRADO
EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Tiago Manuel Pinto Moreira

M

2021-2022

Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto
Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Relatório de Estágio Curricular

Tiago Manuel Pinto Moreira

Farmácia Aliança

janeiro de 2022 a julho de 2022

Relatório apresentado para a obtenção do grau de Mestre em
Ciências Farmacêuticas

Orientador: Professor Doutor Fernando Fernandez-Llimos

Monitor Farmácia comunitária: Dr. Carlos Brás Cunha

Setembro de 2022

Declaração de Integridade

Declaro que o presente relatório é de minha autoria, não foi total nem parcialmente utilizado previamente noutro curso ou unidade curricular, desta ou de outra instituição, e que a informação nele contida é da minha inteira responsabilidade. As referências a outros autores (afirmações, ideias, pensamentos) respeitam escrupulosamente as regras da atribuição, e encontram-se devidamente indicadas no texto e nas referências bibliográficas, de acordo com as normas de referenciação. Tenho consciência de que a prática de plágio e auto-plágio constitui um ilícito académico.

Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, 3 de março de 2022

Tiago Manuel Pinto Moreira

Resumo

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) culmina numa última unidade curricular, o estágio. No último semestre do MICF, o conhecimento teórico e laboratorial adquirido ao longo dos nove semestres anteriores foi desafiado na conjuntura profissional da Farmácia Aliança. Neste sentido, as atividades e projetos desenvolvidos durante o estágio são detalhados ao longo do presente documento em duas partes distintas, respetivamente.

No decorrer do estágio curricular tive a oportunidade de assimilar, minuciosamente, o trabalho de três farmacêuticos com funções bem estabelecidas, no âmbito dos diversos serviços disponibilizados. Desta forma, tive a possibilidade de compreender o papel do farmacêutico na sociedade, enquanto membro ativo da mesma, mas também como promotor da saúde e bem-estar.

No primeiro momento é descrito a contextualização do estágio curricular, o cronograma de atividades realizadas e uma breve explicação. Adicionalmente, são descritas quatro atividades que requereram uma pesquisa no fundamento teórico e na aplicação prática das mesmas.

No segundo momento são descritos três projetos de revisão sobre temas que surgiram no contexto em que se insere a Farmácia Aliança e os diversos serviços disponibilizados pela mesma. O primeiro tema emerge sob o protocolo estabelecido com o grupo DomusVi e pretende visar a ação da combinação tripla de atorvastatina, perindopril e amlodipina, em indivíduos com vários fatores de risco cardiovascular presentes. De seguida, o segundo tema surge da intensa formação em naturopatia dos farmacêuticos da Farmácia Aliança, e é desenvolvido com o intuito de esclarecer os efeitos hepáticos a nível clínico do extrato de cardo mariano. Por fim, o terceiro tema desponha da futura reimplementação do serviço de tricologia na Farmácia Aliança. Assim, ao longo do projeto é descrito o panorama fisiopatológico de uma das patologias mais assentes a nível capilar e o papel das prostaglandinas e seus análogos na patologia.

Índice

DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE	III
RESUMO	IV
ÍNDICE	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VI
ÍNDICE DE ANEXOS	VII
LISTA DE ABREVIATURAS	VIII
PARTE 1	1
SECÇÃO A – FARMÁCIA COMUNITÁRIA	1
1. CONTEXTUALIZAÇÃO DO ESTÁGIO CURRICULAR	1
2. CRONOGRAMA DE ATIVIDADES E SUA EXPLICAÇÃO	2
3. ATIVIDADE 1 – PREPARAÇÃO INDIVIDUALIZADA DA MEDICAÇÃO	4
4. ATIVIDADE 2 – REVISÃO DA MEDICAÇÃO NUMA RESIDÊNCIA SÉNIOR	5
5. ATIVIDADE 3 – PREPARAÇÃO DE FORMULAÇÕES HOMEOPÁTICAS	7
6. ATIVIDADE 4 – NATUROPATIA: IMPORTÂNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO NO VERÃO	9
PARTE 2	13
1. PROJETO 1 – ATORVASTATINA, PERINDOPRIL E AMLODIPINA: VANTAGENS DA ASSOCIAÇÃO TRIPLA	13
2. PROJETO 2 – CARDO MARIANO (<i>SILYBUM MARIANUM</i>) E AS PATOLOGIAS HEPÁTICAS	23
4. PROJETO 3 – ALOPECIA ANDROGENÉTICA: PROSTAGLANDINAS	33
CONCLUSÃO GERAL	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
ANEXOS	57

Índice de Figuras

FIGURA 1 - KRZ MULTIBLIST N1	5
FIGURA 2 - IMPREGMAT I-TRONIC.	9
FIGURA 3 - ODDS RATIOS PARA OS FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR NOS ESTUDOS INTERHEART E INTERSTROKE. ADAPTADO DE KOON ET AL. (48).....	15
FIGURA 4 - DIMINUIÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA (A) E DIASTÓLICA (B) NOS DIFERENTES GRUPOS DE DOENTES HIPERTENSOS (NORMOTENSOS, GRAU I, GRAU II, E GRAU III) AO LONGO DAS 3 VISITAS MENSAS. ADAPTADO DE SIMON ET AL. (64).....	21
FIGURA 5 - ESTRUTURAS QUÍMICAS DOS DIFERENTES FLAVONOLIGNANOS, OU COMPLEXO SILIMARÍNICO, PRESENTES NO CARDO MARIANO. ADAPTADO DE CHAMBERS ET AL.(78).	24
FIGURA 6- A) ACOPLAMENTO OXIDATIVO BIOMIMÉTICO PROPOSTO POR ALTHAGAFY. B) FORMAÇÃO DOS COMPONENTES DA SILIMARINA SEGUNDO A HIPÓTESE DE FREUDENBERG. ADAPTADO DE CHAMBER ET AL. (76).....	25
FIGURA 7 - CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE SILIBINA PUBLICADAS EM ESTUDOS REALIZADOS EM HUMANOS. ADAPTADO DE TVRDÝ ET AL (90).....	27
FIGURA 8- POTENCIAL CONTRIBUIÇÃO DOS FATORES DE RISCO GENÉTICO PARA AS CARACTERÍSTICAS FISIOPATOLÓGICAS DA ALOPÉCIA ANDROGENÉTICA. ADAPTADO DE HEILMANN-HEIMBACH ET AL (143).....	36
FIGURA 9 - ESQUEMA DA BIOSÍNTESE DOS PROSTANÓIDES E DOS SEUS EFEITOS BIOLÓGICOS NOS FOLÍCULOS CAPILARES ATRAVÉS DA ATIVAÇÃO DE DIFERENTES RECETORES DE SUPERFÍCIE CELULAR ACOPLADOS À PROTEÍNA G. ADAPTADO DE XU ET AL (177).	41

Índice de anexos

Anexo 1 - Panfleto elaborado no âmbito da Atividade 4 .	57
Anexo 2 - Formação interna apresentada aos colaboradores da Farmácia Aliança no âmbito do Projeto 2 .	58

Lista de abreviaturas

5 α R	5 α -redutase
5DHT	5 α -dihidrotestosterona
AA	Alopecia androgenética
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
AT1	Angiotensina II tipo 1
ATP	Adenosina trifostato
AVC	Acidente vascular cerebral
BCC	Bloqueador dos canais de cálcio
CEH	Células esteladas hepáticas
CH	Centesimal hahnemanniana
COX	Ciclo-oxigenase
DAC	Doença arterial coronária
DCV	Doença cardiovascular
DHA	Doença hepática alcoólica
DHEA-S	Sulfato de aesiidroepiandrosterona
DHT	Doenças hepáticas tóxicas
ECA	Enzima conversora da angiotensina
EH	Esteatose hepática
EM	Enfarte do miocárdio

eNOS	Sintetase do óxido nítrico endotelial
GSH	Glutathiona
HA	Hepatite alcoólica
HDAC	Histona deacetilase
IL	Interleucina
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MDA	Malondialdeído
MAFLD	Esteatose hepática associada à disfunção metabólica
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
NADPH	Fosfato de dinucleotídeo de adenina e dihidronicotinamida
NF-κB	Fator nuclear kappa B
NO	Óxido nítrico
OMS	Organização mundial de saúde
PA	Pressão arterial
PAF	Fator ativador das plaquetas
PARP	Poli adenosina difosfato ribose polimerase
PAS	Pressão arterial sistólica
PD	Papila dérmica
PIM	Preparação individualizada da medicação
PKC	Proteína quinase C
PPARγ	Proliferador peroxissómico γ
PTGDS	Prostaglandina D2 sintetase
RA	Recetor androgénico

ROS	Espécies reativas de oxigénio
SCF	Fator de células estaminais
SIRT1	Sirtuina 1
SOD	Superóxido dismutase
TGF- β	Fator de transformação do crescimento β
TNF- α	Fator de necrose tumoral α
UV	Ultravioleta
XO	Xantina Oxidase

Parte 1

SECÇÃO A – Farmácia Comunitária

1. Contextualização do estágio curricular

O presente estágio abrangeu o período de 17 de janeiro a 17 de julho de 2022, sob monitorização do proprietário e diretor técnico Dr. Carlos Brás Cunha. Durante este período, para além de desenvolver o conhecimento científico adquirido durante os 5 anos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, tive a oportunidade de adquirir uma panóplia de competências a nível intelectual, social, técnico e prático, pertinentes no âmbito de farmácia comunitária.

A Farmácia Aliança remonta a 1909 quando foi fundada pelo farmacêutico Dr. Frederico Abreu. Em 1984, o atual Diretor Técnico e proprietário, Dr. Carlos Cunha Brás, assume a direção da mesma. A partir desta farmácia forma-se o grupo FastFarma, Farmácias Lda., ao qual se acrescentam, ao longo dos anos, a Farmácia Santo António e Espaço de Saúde Lionesa.

Atualmente, a farmácia apresenta uma área de atendimento aos utentes, uma área dedicada à dermocosmética com gabinete individualizado, onde se realizam tratamentos de corpo e rosto, um laboratório de homeopatia e tricologia, um espaço dedicado à ortopedia e puericultura e uma zona reservada à prestação de outros serviços farmacêuticos, entre os quais a medição da pressão arterial, parâmetros bioquímicos (glicose, perfil lipídico, *International Normalized Ratio* e ácido úrico), realização de rastreios cardiovasculares, respiratórios e de densitometria óssea. Existe ainda o serviço de preparação individualizada da medicação (PIM) realizado, maioritariamente, sob o protocolo com o Grupo DomusVi.

A Farmácia Aliança localiza-se no seio da cidade do Porto, especificamente na Rua da Conceição 2-18. Entre zonas centrais de transporte, restauração e turismo, os utentes que frequentam a farmácia são, na sua maioria, utentes de passagem.

A equipa profissional é constituída por quatro farmacêuticos, incluindo o Diretor Técnico, e quatro técnicos de farmácia.

2. Cronograma de atividades e sua explicação

No primeiro dia de estágio, a reunião com o Dr. Carlos foi determinante para compreender o *modus operandi* da Farmácia Aliança, o papel inicial do estagiário na realização e participação das diferentes atividades, e a progressão das responsabilidades nas mesmas. As atividades realizadas estão especificadas na **Tabela 1**.

Tabela 1 - Cronograma das atividades realizadas em farmácia comunitária

ATIVIDADES	PERÍODO						
	JANEIRO	FEVEREIRO	MARÇO	ABRIL	MAIO	JUNHO	JULHO
ARMAZENAMENTO, GESTÃO E REPOSIÇÃO DE STOCK	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
RECEÇÃO DE ENCOMENDAS	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
CONTROLO DE PRAZOS DE VALIDADE	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS			✓	✓	✓	✓	✓
ATENDIMENTO E DISPENSA DE PRODUTOS FARMACÊUTICOS	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
FORMAÇÃO EXTERNA		✓	✓	✓	✓		
ATIVIDADE 1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
ATIVIDADE 2	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
ATIVIDADE 3		✓	✓	✓	✓	✓	✓
ATIVIDADE 4						✓	✓
PROJETO 1				✓		✓	✓
PROJETO 2				✓		✓	✓
PROJETO 3						✓	✓

Na reunião supracitada ficou estabelecido que semanalmente e alternadamente, iria acompanhar a Dra. Susana e Dra. Sónia nas atividades da farmácia ou acompanhar o Dr. Gonçalo no protocolo estabelecido entre a Farmácia Aliança e o grupo DomusVi.

A constante procura pela inovação por parte do grupo FastFarma levou a que o mesmo instalasse um *robot* para armazenamento e gestão do *stock*. Isto permite uma otimização tanto do armazenamento e gestão do *stock* como do tempo proporcionado pelo farmacêutico ao atendimento a todos os utentes.

Desta forma, durante o estágio o armazenamento, gestão e reposição de stock aplicou-se a produtos, como por exemplo, suplementos naturais, medicamentos e produtos *over the counter*, medicamentos veterinários, e produtos dermocosméticos. A realização diária de encomendas era efetuada através do software utilizado na farmácia (SIFARMA2000®) correspondendo às variações de stock perfazendo as necessidades dos utentes no momento do atendimento ao balcão. No momento de receção das encomendas, os medicamentos frios eram conferidos imediatamente, atenuando possíveis variações de temperatura. Adicionalmente, realizava-se a verificação de possíveis diferenças entre as faturas e as notas de encomenda, a determinação e alteração do preço dos produtos sem preço de venda ao público estabelecido e, ainda, o acondicionamento das reservas realizadas pelos utentes.

Os prazos de validade são monitorizados mensalmente a partir de um documento obtido informaticamente, garantido que o modelo *first expired, first out* era corretamente implementado.

O atendimento ao público e dispensa de produtos farmacêuticos teve início no primeiro dia do estágio curricular, com supervisão dos diferentes farmacêuticos presentes. Ao longo do estágio a supervisão e micro gestão do atendimento foi atenuando linearmente com o aumento da autonomia no atendimento ao balcão. As estratégias de aconselhamento estavam a par com as recomendações dos guias de prática clínica e com os conhecimentos dos farmacêuticos a nível de produtos dermocosméticos e de naturopatia.

A determinação de parâmetros bioquímicos teve início após uma explicação detalhada, por parte dos farmacêuticos, dos diferentes serviços disponibilizados. Apesar de ser uma atividade esporádica (a Farmácia Aliança conta com a prestação de serviços de duas enfermeiras) adquiri sensibilidade e conhecimentos para agir conforme as necessidades e circunstâncias de cada utente.

Com o intuito de expandir o conhecimento sobre temas menos explorados ao longo do meu percurso académico, participei em três formações sobre suplementos naturais, e uma formação sobre dermatologia e cosmética.

3. Atividade 1 – Preparação Individualizada da Medicação

Os medicamentos têm um papel central nos cuidados de saúde, particularmente nas pessoas que vivem com doença crónica, e doença aguda. A toma simultânea de vários medicamentos, designada por polimedicação, é muito frequente. Para os medicamentos terem o efeito desejado, e prevenir ou mitigar possíveis efeitos secundários e interações entre medicamentos, é necessário tomá-los corretamente, de acordo com as instruções, na dose certa e no horário recomendado.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2003, metade dos cidadãos sujeitos a terapêutica crónica não faz uma toma correta da sua medicação (1). São diversas as causas para a não adesão à terapêutica que, segundo Horne (2), podem ser dicotomizadas em intencionais e não intencionais. A adesão não intencional pode ser minimizada com o recurso à PIM.

Desta forma, no âmbito deste serviço disponibilizado pela Farmácia Aliança, a unidade de cuidados de saúde DomusVi Júlio Dinis assegurou que toda a medicação era preparada sob as Boas Práticas de Farmácia (3) e a norma geral relativa à Preparação Individualizada da Medicação (4). Durante todo o processo, existia uma articulação com outros profissionais de saúde, nomeadamente, médicos de medicina geral e familiar, de psiquiatria e enfermeiros, de forma a implementar, efetivamente, este serviço.

Neste processo, as funções do farmacêutico iniciam aquando do ingresso ou regresso de um utente. Cada utente está registado num software, o *Inove Saúde*, onde é possível acompanhar o respetivo mapa terapêutico. De uma maneira geral, é possível dividir a medicação ao longo de cinco tomas diferentes (jejum às 7h; pequeno-almoço às 8h; almoço às 12h; lanche às 16h; jantar às 19h; ceia às 22h), salvo exceções para utentes com necessidades especiais. Desta forma, a cada momento fica associada a medicação correspondente. Adicionalmente é ainda possível observar a duração do tratamento proposto pelo médico prescritor.

Após o médico emitir o guia terapêutico, o farmacêutico realiza uma avaliação das interações medicamentosas, em articulação com o médico prescritor. Posteriormente, os medicamentos são retirados da embalagem secundária e colocados na máquina de embalamento, KRZ Multiblist N1 (**Figura 1**). Neste equipamento faz-se o embalamento individualizado da medicação, semanalmente, em *blisters* selados hermeticamente, a 120°C. No blister constam informações importantes de identificação e rastreamento, nomeadamente: nome do utente e respetivo piso; refeição a que se destina a toma (por

vezes com indicação do dia a que se destina); medicação discriminada com indicação do prazo de validade e lote. Em caso de alteração médica da unidose já preparada, esta será



reajustada pelo farmacêutico e, na ausência deste, a responsabilidade será do enfermeiro do turno com o preenchimento de um documento de notificação. Posteriormente, as unidoses são acondicionadas em local próprio (gaveta individualizada num carrinho próprio) e entregue no piso a que se destinam. Por fim, o enfermeiro do turno administra a unidose a cada utente.

Figura 1 - KRZ Multiblist N1

Naturalmente, este procedimento não é aplicável a medicamentos termolábeis, higroscópicos, como por exemplo formas dispersíveis, orodispersíveis, efervescentes, bucais ou sublinguais, liofilizados orais, pastilhas e pastilhas moles, nem aqueles que são sensíveis à luz ou requerem precauções especiais de conservação (por exemplo: refrigeração) especificadas na embalagem primária.

Durante este procedimento, tive oportunidade de estar em contacto com diversas patologias associadas à idade avançada e estudar as várias linhas de tratamento das mesmas. Ainda desta atividade surgiu a conceptualização do Projeto 1 de forma a reduzir os custos do mapa terapêutico e aumentar a adesão à terapêutica.

4. Atividade 2 – Revisão da medicação numa residência sénior

No seguimento da “**Atividade 1**” e, segundo a norma geral da Ordem dos Farmacêuticos relativa à PIM, é recomendável que seja feita uma revisão da medicação de pelo menos Nível 1 [4]. Neste sentido, a Farmácia Aliança aplica este serviço no protocolo acordado com a residência sénior DomusVi Júlio Dinis.

O nível de detalhe e complexidade deste processo depende, em maioria, da informação disponível ao farmacêutico. Existem, fundamentalmente, 3 níveis: Nível 1, Nível 2A e 2B, e Nível 3 (5). O Nível 1 (ou revisão da medicação simples) baseia-se na análise do histórico farmacoterapêutico do doente. Desta forma, é possível identificar

duplicações terapêuticas e interações fármaco-fármaco, efeitos adversos, doses incomuns e medicação potencialmente inadequada. O Nível 2A e 2B (ou revisão da medicação intermédia) são desenvolvidos na interação com o utente (Nível 2A) ou com o médico assistente (Nível 2B). A proveniência da informação é o fator determinante na classificação de Nível 2A ou 2B. Assim, estas interações permitem obter informações necessárias como por exemplo, informações sobre análises clínicas laboratoriais e exames complementares de diagnóstico, complementando a informação disponível no histórico farmacoterapêutico. Em relação ao Nível 1, é possível identificar, adicionalmente, interações fármaco-alimento, problemas de efetividade, problemas relacionados com medicação sem indicação médica e, ainda, medicação potencialmente inadequada. O Nível 3 (ou revisão da medicação avançada) é a junção do Nível 2A e 2B. Deste modo, este é desenvolvido com base na análise do histórico farmacoterapêutico, informações provenientes do utente e informação clínica.

No protocolo supracitado, o farmacêutico tem acesso ao histórico farmacoterapêutico e ao processo clínico do utente presente no software *Inove Saúde*. Por consequência, este serviço classifica-se como Nível 2B. O processo de revisão da medicação inicia-se sempre que existe o ingresso de um utente na residência sénior ou qualquer alteração relevante no mapa terapêutico do mesmo. No caso de se tratar de um ingresso, a DomusVi – Júlio Dinis conduz uma entrevista extensiva de forma a recolher dados sociodemográficos e fisiopatológicos, o plano terapêutico atual, dados referentes ao estilo de vida e alergias conhecidas. Estes dados são registados no software *Inove Saúde*, criando-se a ficha do respetivo utente, de forma que os dados estejam disponíveis a qualquer momento e sempre que necessário. Após *upload* desta ficha, o farmacêutico recebe uma notificação sobre o ingresso. De forma a reunir toda a informação num só documento, o farmacêutico responsável regista num relatório as potenciais interações clinicamente relevantes entre medicamentos prescritos e duplicações da terapêutica. No caso de interações medicamentosas potenciais, apresentam-se numa tabela os medicamentos que interagem entre si, assim como os efeitos adversos associados às potenciais interações. Posteriormente, emite-se este relatório ao médico assistente, assim como informação adicional como doses e posologias incorretas e contraindicações. Este processo é realizado em articulação com o médico assistente, sendo este responsável pela pesquisa de informação aquando da necessidade de ajustes de doses por insuficiência de órgãos, utilização de medicação de que o utente não necessita, ou que não é adequado para

o seu diagnóstico clínico; e, situações ou problemas de saúde em que parece haver indicação para iniciar um medicamento, com o objetivo de tratar ou prevenir um problema de saúde. De seguida, o médico realiza as alterações necessárias ao mapa terapêutico do utente e o farmacêutico prepara a medicação do utente conforme descrito na “**Atividade 1**”. No caso de ser uma alteração ao mapa terapêutico, o farmacêutico cria um relatório sobre as potenciais interações clinicamente relevantes entre o(s) novo(s) medicamento(s) e os medicamentos previamente prescritos, bem como os possíveis efeitos adversos que advêm desta interação. Este relatório é então facultado ao médico assistente de forma que este tenha as informações necessárias sobre o plano terapêutico do utente. Assim, num possível momento em que as vantagens da administração concomitante de medicamentos que interagem entre si tenham um peso inferior às desvantagens, são realizadas as devidas alterações ao plano terapêutico.

Numa população cada vez mais envelhecida (6), o número de polimedicados é, naturalmente, maior. Desta forma, a revisão da medicação apresenta-se, cada vez mais, como um potencial fator representativo na minimização de problemas de saúde associados a planos terapêuticos não otimizados. Durante esta atividade tive a oportunidade de me familiarizar com as interações medicamentosas mais prevalentes, o seu mecanismo de interação e as alternativas terapêuticas existentes.

5. Atividade 3 – Preparação de formulações homeopáticas

No ano de 2003, a Assembleia da República aprovou e regulamentou, com várias alterações ao longo dos anos, o exercício das terapêuticas não convencionais, de entre as quais se destaca a homeopatia (7). Neste sentido, a Farmácia Aliança criou o seu laboratório homeopático, em 2014. A criação deste laboratório teve como objetivo melhorar a qualidade da prestação de serviços e cuidados de saúde, assim como corresponder às necessidades e expectativas dos utentes.

A homeopatia tem uma abordagem holística relativamente à terapêutica, tendo como princípio central a lei da semelhança - "semelhantes curam-se pelos semelhantes" (em latim: *similia similibus curantur*) - enunciada, inicialmente, por Hipócrates no século IV a.C, e desenvolvida, posteriormente, por Samuel Hahnemann no século XVIII. Para além deste fundamento, coalescem 3 outros princípios: experimentação no Homem saudável de forma a revelar os sintomas físicos, funcionais, emocionais e mentais de cada “cepa” (matéria-prima utilizada na base dos medicamentos homeopáticos); lei das

infinitesimais (o oposto da relação dose-dependente demonstrada por farmacologistas) para evitar o agravamento inicial dos sintomas e aumentar o potencial terapêutico (processo farmacotécnico, denominado “dinamização”); e, por fim, o medicamento único proposto por Hahnemann. Atualmente existem escolas divergentes que defendem a administração de várias “cepas”) de forma a obter a patogenesia das diferentes “cepas”, estas eram administradas isoladamente (8).

O medicamento homeopático é produzido sob a técnica de dinamização, que consiste na diluição e sucussão das substâncias. Este preparado tem origem numa tintura-mãe alcoólica de produtos que podem ser de origem vegetal, animal ou mineral. A escala de diluição proposta por Hahnemann utilizava 1 parte de tintura-mãe e 99 partes de etanol 70%. Este preparado teria uma dinamização a 1 centesimal Hahnemanniana (CH). Dependendo da escola homeopática, outros métodos podem ser adotados, os quais são classificados, segundo a Farmacopeia Europeia, em método de Hahnemann, ou de Korsakov. Na escala de Hahnemann, as dinamizações até 9 CH, têm uma ação em processos agudos; as dinamizações entre 9 CH e 30 CH correlacionam-se a processos crónicos; e, as dinamizações até 200 CH atuam mais profundamente no foro psicológico (9).

Os medicamentos homeopáticos podem ser administrados sob variadas formas farmacêuticas nomeadamente, sob a fórmula de grânulos inertes de oligossacarídeos, solução ou comprimidos.

Na Farmácia Aliança, as tinturas-mãe são adquiridas junto de fornecedores certificados, onde são produzidas de acordo com um processo de fabrico descrito na farmacopeia europeia.

A ação do farmacêutico inicia aquando do aconselhamento farmacêutico ao balcão e, no laboratório homeopático, inicia aquando da receção da tintura-mãe. De forma a corresponder às necessidades dos utentes, as dinamizações são produzidas de acordo com as diferentes escalas supracitadas (de Hahnemann, e de Korsakov). A título de exemplo, para produzir uma dinamização a 1 CH utiliza-se 1 parte de tintura-mãe e dilui-se em 99 partes de etanol 70% v/v e, de seguida, leva-se esta solução ao dinamizador. Neste aparelho ocorre a sucussão que é uma agitação vigorosa da solução, estando o aparelho calibrado para, aproximadamente, 100 agitações. A agitação vigorosa é obtida por um rápido movimento bidireccional do recipiente, sendo cada movimento abruptamente interrompido para aumentar a entropia de forma significativa ao longo da solução. Para

produzir uma dinamização a 2 CH é utilizada 1 parte da dinamização a 1 CH e dilui-se em 99 partes de etanol 70% v/v repetindo-se, de seguida, o procedimento anteriormente descrito. Logo após, no impregnador, Impregmat I-Tronic (**Figura 2**), os grânulos inertes de sacarose são pulverizados com a solução dinamizada. Neste aparelho, a preparação é homogeneizada no interior do rotor e seca, automaticamente e alternadamente, com temperatura não superior a 40 °C. Por fim, o acondicionamento dos grânulos é realizado num recipiente translúcido com capacidade para aproximadamente 80 grânulos e rotulado. O rótulo contém informações descritas, nomeadamente, a “cepa” utilizada, a dinamização, a data de validade, o lote e o local de preparação.



Figura 2 - Impregmat I-Tronic.

Atualmente, a homeopatia é um tema pouco consensual no seio da comunidade científica. No entanto, a adoção desta terapêutica alternativa é uma realidade em Portugal e, uma vez que todos os setores farmacêuticos contactam com medicamentos homeopáticos, é fundamental que o farmacêutico esteja familiarizado com os conceitos envolventes a esta terapêutica. Com esta atividade, pude contactar com diferentes medicamentos homeopáticos, o que suscitou interesse para pesquisar informação sobre os mesmos e, desta forma, exercer um atendimento farmacêutico mais diversificado.

6. Atividade 4 – Naturopatia: Importância da suplementação no verão

No decorrer do estágio, as notícias sobre o paradigma climático atual eram alarmantes. Neste sentido, fiz uma pesquisa sobre o tema da radiação ultravioleta e as substâncias ativas relevantes (e passíveis de suplementar na alimentação), para a

manutenção do bom funcionamento da pele. Com as informações desenvolvidas nos pontos seguintes elaborei um panfleto para ser distribuído aos utentes da Farmácia Aliança (**Anexo 1**).

A pele é o maior órgão do corpo, e tem como papel principal atuar como uma barreira química e física na proteção do corpo contra agentes ambientais externos nocivos, nomeadamente, a exposição à radiação ultravioleta (UV) - nomeadamente, UV A e UV B. A pele é composta por três camadas principais com diferentes elementos estruturais subjacentes: a epiderme, a derme e a hipoderme. A radiação solar UV pode interagir com inúmeras moléculas (cromóforos) nas diferentes camadas da pele. Estas interações podem ter efeitos biológicos positivos e negativos, dependendo do comprimento de onda, da exposição à radiação e das suas fontes UV. Os efeitos positivos incluem essencialmente a síntese de vitamina D e o tratamento de diferentes patologias cutâneas - fototerapia. Os efeitos adversos da radiação UV incluem inflamação, imunossupressão e distúrbios alérgicos, fotoenvelhecimento, danos na ácido desoxirribonucleico (ADN), stress oxidativo e carcinogénese (10).

De um ponto de vista molecular, alguns sinais de danos como a ativação da p53 alteram significativamente a fisiologia dos queratinócitos, mediando a supressão o do ciclo celular e ativando a reparação do ADN. O fator de transcrição nuclear – fator nuclear κ B (NF- κ B) - é também ativado pela radiação UV B (11), desencadeando o processo inflamatório. A imunossupressão induzida por UV não afeta apenas a zona irradiada, como também influencia todo o sistema imunitário, uma vez que a pele inclui todos os tipos de células também presentes no baço, gânglios linfáticos e nas amígdalas. As principais células afetadas pela radiação UV, especificamente a UV B, são as células de Langerhans e os linfócitos T (12, 13). O envelhecimento da pele é um processo biológico complexo resultante de dois grupos de fatores sinérgicos: fatores intrínsecos e extrínsecos. A radiação UV tem um papel relevante nos fatores extrínsecos, sendo responsável por aumentar a expressão das metaloproteinases na pele (14). Estas enzimas são responsáveis por degradar proteínas funcionais da matriz extracelular apresentando, ainda, uma função importante na angiogénese e metástase associadas a tumores (15). Adicionalmente, a sobre-exposição à radiação UV gera espécies reativas de oxigénio (ROS), criando um estado pró-oxidativo com consequências danosas ao nível da oxidação lipídica e proteica, assim como ao nível do ADN.

A suplementação alimentar com vitaminas, minerais ou ácidos gordos essenciais proporciona benefícios ao nível da preservação do bom funcionamento da pele, de forma a combater os efeitos adversos da radiação UV (16). Neste sentido as substâncias ativas que se destacam são as vitaminas A, C e E, selénio, zinco, cobre, β -caroteno e ómega-3 (17).

A vitamina A (retinol) estimula a síntese de proteínas e a proliferação das células epidérmicas. Adicionalmente, estimula os fibroblastos de forma que estes produzam colagénio e elastina, e protege o colagénio da degradação pelas metaloproteinases da matriz (18, 19).

A vitamina C (ácido ascórbico) tem um papel relevante na diferenciação dos queratinócitos e na biossíntese de colagénio e ceramida (20-22). Complementarmente, influencia a expressão genética de enzimas antioxidantes, aumenta a resistência à radiação UV A e diminui os níveis de interleucinas pró-inflamatórias (20, 23).

A vitamina E (tocoferol) é o principal antioxidante humano lipossolúvel. Apresenta uma habilidade significativa para sequestrar radicais livres, tornar-se parte das estruturas lipídicas e evitar a sua peroxidação (24, 25). Manifesta, também, fortes propriedades fotoprotetoras, hidratantes e de antienvhecimento, protegendo a pele da radiação UV B (26).

O selénio desempenha uma função proeminente na estrutura de complexos enzimáticos. Apresenta um efeito protetor e capacidade de sequestrar radicais livres demonstrando, assim, potencial antioxidante contra o stress oxidativo provocado pela radiação UV B (27, 28).

O zinco desempenha funções catalíticas, estruturais e reguladoras, sendo importante para a regulação do metabolismo dos lípidos, proteínas e ácidos nucleicos, bem como para a transcrição de genes (29). É conhecido por estabilizar membranas celulares, por intervir na sobrevivência e diferenciação dos queratinócitos (30), e apresentar um forte poder antioxidante, nomeadamente, através da superóxido dismutase (31, 32).

O cobre estimula a proliferação de fibroblastos ao nível da derme e está envolvido na síntese e estabilização de proteínas da matriz extracelular da pele, e na angiogénese. É um cofator da superóxido dismutase, prevenindo os danos oxidativos nas membranas celulares e na peroxidação lipídica (33, 34).

O β -caroteno desempenha papéis importantes contra o stress oxidativo e inflamação pela sua capacidade de ser oxidado e sequestrar radicais livres (35).

A nível dérmico, os ómega-3 tem propriedades anti-inflamatórias através da competição, como substrato, para a cicloxigenase e lipoxigenase, desencadeando uma menor prevalência de prostaglandinas e leucotrienos (36).

Contudo, a associação da vitamina A com a prevenção do desenvolvimento de melanoma foi abordado num meta-análise (37). Após análise da informação disponível, os autores concluíram que a suplementação com retinol é eficaz na prevenção do desenvolvimento de melanoma (*odd ratio* entre 0,69-0,92). Por outro lado, a suplementação com vitamina A total ou β -caroteno não obteve resultados na mesma linha de relevância, com *odd ratios* entre 0,59-1,25 e 0,62-1,20, respetivamente.

Numa meta-análise realizada em 2013 (38), a suplementação com ómega-3 demonstrou uma diminuição do risco com *odd ratio* entre 0,59-1,23 no desenvolvimento de carcinoma de células escamosa, e *odd ratio* 0,34-0,78 no desenvolvimento de melanoma.

A associação entre a suplementação com as substâncias supracitadas e a prevenção de cancro da pele é promissora. Não obstante, a ausência de resultados concordantes e a heterogeneidade da população nestes estudos dificulta a correlação entre a suplementação com as substâncias ativas descritas e a prevenção do desenvolvimento de cancro da pele.

Em virtude destas informações, aliando os restantes cuidados não farmacológicos (como por exemplo: evitar a exposição solar nas horas de maior calor, utilizar protetor solar adequado ao fototipo da pele, ingerir água de forma a garantir a hidratação corporal) à suplementação com as substâncias supracitadas é possível preparar a pele para a exposição ao sol.

Parte 2

1. Projeto 1 – Atorvastatina, Perindopril e Amlodipina: vantagens da associação tripla

Introdução

As doenças cardiovasculares (DCV) são a causa de morte mais comum em todo o mundo. Segundo as recentes estimativas da OMS, em 2019, 17,9 milhões de pessoas morreram de doenças cardiovasculares, representando 32% do total de mortes a nível mundial (39). Contudo, a taxa de mortalidade por doenças cardiovasculares tem diminuído nos países desenvolvidos, mas tem continuado a aumentar nos países em desenvolvimento. A taxa de mortes prematuras por DCV varia entre 4% nos países desenvolvidos e 42% nos países em desenvolvimento (40). A morbidade e mortalidade das DCV estão associadas a significativos encargos financeiros relacionados com a hospitalização, medicação, e consequentemente produtividade reduzida.

A difusão das DCV está correlacionada com o aumento da prevalência de fatores de risco bem estabelecidos e modificáveis, tais como hipertensão, diabetes, obesidade, dislipidemia, sedentarismo, dieta inadequada, e tabagismo (40). Amplos estudos epidemiológicos demonstraram que os fatores de risco acima mencionados representam até 90% dos eventos de DCV (41). Estas condições afetam uma população em constante crescimento e coexistem frequentemente: a hipercolesterolemia pode estar presente em 40-60% dos doentes hipertensivos. Em comparação com o aumento individual do risco associado a uma destas duas patologias, a sua presença simultânea resulta num aumento exponencial da morbidade e mortalidade cardiovascular. De acordo com o estudo da Global Burden of Disease 2010, as consequências da hipertensão e da hipercolesterolemia representaram 53% e 29%, respetivamente, dos anos de vida ajustados à incapacidade em doentes hipertensos com cardiopatia isquémica (42). Isto significa que o controlo simultâneo da hipertensão e da hipercolesterolemia pode atingir resultados substancialmente melhores na diminuição do risco, o que pode contribuir para uma maior eficácia na prevenção de eventos cardiovasculares.

Contundo, atingir uma adesão ótima no domínio da medicina cardiovascular é um enorme desafio clínico e uma prioridade de longa data para a saúde global. Uma deficiente adesão à terapia médica no contexto da prevenção das doenças cardiovasculares está associada, inquestionavelmente, a perturbações cardiovasculares (43). Com isto em mente,

o conceito de um "polypill" para a redução do risco cardiovascular foi proposto, inicialmente, em 2003 (44).

Os benefícios da combinação da atorvastatina, perindopril e amlodipina, bem como o sinergismo entre estas substâncias ativas, foram confirmados pelas análises *post-hoc* do estudo ASCOT, financiado, em parte, pela Pfizer (45).

Doenças Cardiovasculares: Fatores de risco

Conhecer e detetar os fatores de risco que precedem a DCV é fundamental para identificar os indivíduos com maior probabilidade de desenvolver DCV, de modo que as estratégias de intervenção possam ser utilizadas no tratamento dos fatores de risco e na modulação dos seus efeitos no risco de DCV. Foram identificados numerosos fatores de risco associados à DCV e que conduziram a uma gestão sistemática da epidemia de DCV.

Inicialmente, o estudo de Framingham tinha identificado fatores de risco comuns tais como hipertensão, diabetes, obesidade, dislipidemia, tabagismo, sedentarismo, e falta atividades físicas adequadas como fatores de risco que poderiam ser modificados ou prevenidos para reduzir a DCV (46).

Os resultados de dois estudos recentes de controlo de casos, o estudo INTERHEART (41) e o estudo INTERSTROKE (47), financiados em parte por empresas farmacêuticas, como por exemplo Boehringer Ingelheim, AstraZeneca, Pfizer, Novartis, Aventis, Abbot, Bristol Myers Squibb, King Pharma, e Sanofi-Syhelabo. Estes estudos focalizados principalmente nos países em desenvolvimento, alteraram a perceção das DCV nestes países. Os resultados destes estudos confirmaram que as pessoas nos países em desenvolvimento enfrentam os mesmos riscos, e fatores de risco semelhantes aos dos países desenvolvidos, e identificaram os fatores de risco cardiovascular comuns que requerem intervenções direcionadas, sistemáticas, sustentadas e eficazes, particularmente nos países em desenvolvimento, para mitigar a epidemia das DCV nestas regiões do mundo.

O estudo INTERHEART, um estudo de controlo de casos de enfarte agudo do miocárdio, registou uma coorte multiétnica de 52 países de todo o mundo (41). Participaram 15 152 indivíduos que contraíram o seu primeiro enfarte do miocárdio e 14 820 participantes no controlo de idade e sexo. Os nove fatores de risco mais comuns e suscetíveis de serem avaliados foram estatisticamente associados ao aumento do risco de enfarte do miocárdio. O tabagismo, dislipidemia, hipertensão, diabetes, obesidade e fatores

psicossociais foram significativamente associados ao risco acrescido de enfarte do miocárdio. O consumo diário de frutas e legumes, o consumo de álcool reduzido a moderado, e atividade física regular estavam associados a um menor risco. Estas associações estavam presentes em mulheres e homens, idosos e jovens, e em todas as regiões do mundo. O tabagismo, as dislipidemias, a hipertensão e a diabetes foram particularmente associados a um maior risco de enfarte do miocárdio, em indivíduos mais jovens do que nos mais velhos (**Figura 3**).

O estudo INTERSTROKE registou 26 919 participantes, com 10 388 participantes que contraíram um primeiro acidente vascular cerebral (AVC), 3 059 participantes com hemorragia intracerebral, e 13 472 participantes de controlo, de 32 países (47). Hipertensão e causas cardíacas, tais como fibrilação atrial e doença cardíaca valvular, foram associadas aos maiores riscos de AVC, com *odd ratio* de 3,0 ou mais, seguidos de fatores psicossociais e ingestão excessiva de álcool. A hipertensão e o sedentarismo foram associados a um risco de 30% ou mais. Uma pobre qualidade da dieta e a dislipidemia estavam também associadas a um risco elevado para o AVC (**Figura 3**).

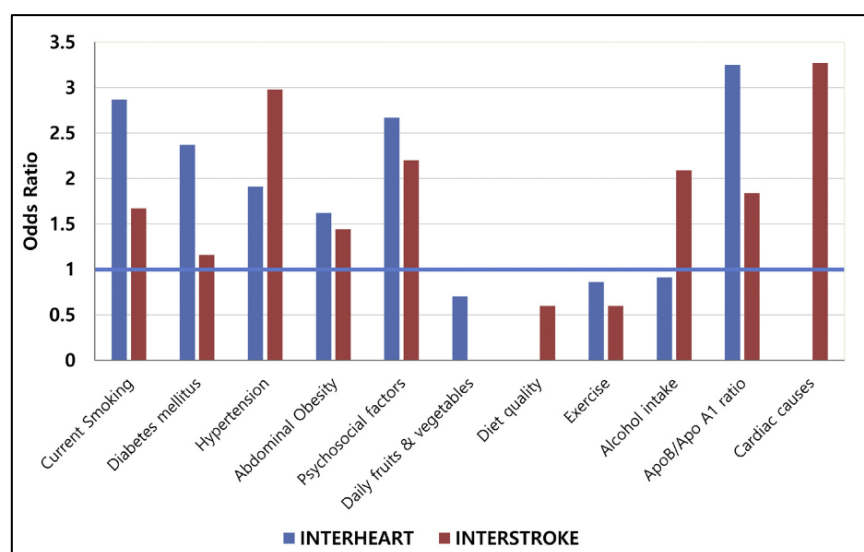


Figura 3 - Odds ratios para os fatores de risco cardiovascular nos estudos INTERHEART e INTERSTROKE. Adaptado de Koon et al. (48).

Interação entre hipertensão e hipercolesterolemia

A presença de hipercolesterolemia, em pacientes com hipertensão, é responsável por uma elevada proporção do risco cardiovascular, uma vez que os dois fatores de risco coexistem numa grande percentagem de indivíduos e a sua combinação está associada a

uma taxa de eventos que excede largamente a contribuição isolada de qualquer fator de risco único (49).

Os efeitos combinados da hipercolesterolemia e da hipertensão arterial na mortalidade e morbidade cardiovascular foram quantificados por Neaton *et al.* (49) numa população de homens com idades compreendidas entre os 37 e os 57 anos. Os investigadores demonstraram que o risco ajustado à idade de morte coronária era 10 vezes maior nos indivíduos incluídos no quintil superior tanto para o colesterol plasmático (>142 mg/dl) como para a pressão arterial (>245 mmHg) do que o nos indivíduos com pressão arterial e colesterol sérico no quintil inferior (pressão arterial sistólica <118 mmHg e colesterol sérico <182 mg/dl). De facto, o aumento do risco cardiovascular observado nos doentes hipertensos, na presença de níveis elevados de colesterol, pode ser demonstrado em toda a gama de níveis de colesterol sérico, a partir de valores >180 mg/dl.

Mecanismo da relação causal entre Hipercolesterolemia e Hipertensão

O efeito da hipercolesterolemia no aumento da tensão arterial baseia-se em vários mecanismos (50). Exemplo disso é o efeito da hipercolesterolemia na redução da biodisponibilidade do óxido nítrico (NO). As condições hipercolesterolémicas aumentam a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e a formação de radicais livres, o que diminui a transcrição da NO sintetase endotelial (eNOS). O aumento da produção de radicais livres é mediado pela fosfato de dinucleotídeo de adenina e dihidronicotinamida (NADPH) oxidase, xantina oxidase (XO), ciclo-oxigenase (COX), e pela cadeia de eletrões mitocondrial, inativação do sistema antioxidante e desacoplamento da NO sintetase endotelial. O nível de colesterol plasmático está significativamente correlacionado com a concentração de dimetilarginina, que é um análogo natural da L-arginina, que inibe competitivamente a produção de NO (51).

Uma diminuição do NO reduz a capacidade vasodilatadora e induz a hipertensão. O NO desempenha um papel importante na antagonização dos efeitos da angiotensina II, endotelina e ROS. A hipercolesterolemia estimula a atividade do plasma e tecidos do sistema renina-angiotensina-aldosterona, e a síntese de angiotensina II. As consequências da hipercolesterolemia incluem também o aumento do nível de endotelina-1 e a atividade amplificada dos seus recetores.

A outra razão pela qual a hipercolesterolemia e a hipertensão exercem as suas ações nas células endoteliais é através de vias de sinalização comuns. No entanto, os autores

revelaram que os recetores H_2O_2 e os recetores de angiotensina II tipo 1 associados às células, estavam relacionados com a dilatação dependente do endotélio na combinação destes fatores de risco (51).

A diminuição da biodisponibilidade de NO e dos níveis elevados de substâncias vasoativas induzem disfunção endotelial, mas também aumentam a sensibilidade ao sal (50). Além disso, a disfunção endotelial é um dos mecanismos mais importantes para a indução da sensibilidade ao sal. Na hipercolesterolemia, a transferência entre a lipoproteína e a membrana celular afeta a fluidez da membrana e a sua atividade de transporte através dos canais iónicos. Assim, o colesterol afeta a membrana celular renal ao reduzir o efluxo de sódio do nefrónio, com uma consequente redução da depuração do mesmo.

Um mecanismo adicional que poderia contribuir para uma tensão arterial elevada na hipercolesterolemia é a constrição microvascular, que representa a consequência do aumento do influxo de cálcio (Ca^{2+}) nas miofibrilas lisas. O aumento da atividade dos canais de cálcio do tipo L na membrana lisa da miofibrila, em situação de hipercolesterolemia, é uma modificação essencial que poderia contribuir para a hipertensão em indivíduos com hipercolesterolemia (52).

Polypill: o conceito

O conceito de *polypill* deriva de dados que atribuem o aumento da prevalência das DCV a fatores de risco modificáveis e tratáveis, que têm um impacto indesejável sobre a população mundial.

A abordagem tradicional na prevenção das DCV passa por um processo de rastreio dos indivíduos de modo a identificar os fatores de risco e posteriormente recorrer a modificações comportamentais aliadas a fármacos para melhorar os perfis de risco antes da manifestação da doença clínica (prevenção primária) ou após um evento primário de DCV (prevenção secundária). A eficácia deste paradigma de cuidados depende de múltiplas variáveis, incluindo a adesão do paciente à terapia e a acessibilidade aos cuidados de saúde. Embora este método tenha sido bem-sucedido na diminuição da mortalidade por DCV, em países desenvolvidos, não se obteve os mesmos resultados no paradigma global (40).

Assim, Wald *et al.* introduziram o conceito de *polypill* em 2003 como um novo método radical para a prevenção e tratamento das DCV (44). O conceito centrou-se no desenvolvimento de um único comprimido composto por combinações fixas de

medicamentos que, individualmente, demonstraram tratar eficazmente os fatores de risco modificáveis das DCV. Consideravam que este comprimido universal (composto por uma estatina, três medicamentos anti-hipertensores com metade da dosagem padronizada, ácido fólico e aspirina) reduziria os eventos de doenças cardíacas isquêmicas em 88% e acidentes vasculares cerebrais em 80%, se tomado por todas as pessoas com mais de 55 anos de idade (independentemente do perfil de risco) e por todas as pessoas com DCV. Acrescentaram que o conceito do *polypill* era tão robusto que a omissão de um único componente não alterava, significativamente, a redução do risco. Por exemplo, a omissão do ácido fólico apenas reduziu o risco calculado para 86% no caso de enfarte do miocárdio (EM) e 74% no caso de AVC. Os autores quantificaram as suas conclusões em relação à redução total do risco, multiplicando os riscos relativos associados à alteração de cada fator de risco (tensão arterial, colesterol, função plaquetária e homocisteína sérica) conforme determinado por várias meta--análises. Além disso, defenderam a utilização da idade como o único fator discriminatório para o tratamento, porque o risco relativo de eventos de DCV aumenta linearmente com a idade e, como resultado, a maioria dos eventos de DCV ocorre em pessoas com mais de 55 anos de idade (53).

Este conceito propôs uma mudança no paradigma da prevenção e tratamento da DCV para um conceito mais simplificado e orientado para a saúde pública.

Fundamentação para a combinação tripla de Atorvastatina, Perindopril e Amlodipina

As diretrizes europeias para a gestão da hipertensão recomendam atualmente a utilização de combinações de dose fixa, tais como um inibidor da enzima conversora da angiotensina (ECA) combinado com um bloqueador dos canais de cálcio (BCC) (54). Assim, os inibidores da ECA e os BCC são os agentes anti-hipertensivos mais frequentemente prescritos e reduzem o risco cardiovascular através de mecanismos de ação complementares.

Os inibidores da ECA bloqueiam a conversão da angiotensina I em II e previnem a degradação da bradicinina (55). São também úteis porque a angiotensina II é um potente vasoconstritor que induz alterações fisiopatológicas prejudiciais, com possibilidade de culminar em acidente vascular cerebral, insuficiência cardíaca e insuficiência renal. A angiotensina II pode, entre outros problemas, induzir apoptose e disfunção endotelial, promover inflamação, acelerar a oxidação lipídica e a adesão de monócitos, e causar a

proliferação celular. Por outro lado, a preservação da bradicinina tem um efeito atenuante sobre a pressão arterial (PA), estimulando a liberação de fatores vasodilatadores, incluindo o NO. Estes efeitos são opostos aos efeitos negativos induzidos pela angiotensina II: a liberação de bradicinina protege o endotélio vascular, aumenta a expressão e atividade da eNOS e diminui a apoptose endotelial. Estas propriedades anti ateroscleróticas traduzem-se em proteção cardiovascular, com benefícios terapêuticos nas doenças cardiovasculares.

A nível molecular, os inibidores da ECA podem potenciar o efeito dos BCC e vice-versa. Por exemplo, tanto o perindopril como a amlodipina causam vasodilatação, aumentam a produção de óxido nítrico e a ação do ativador do plasminogénio tecidual, e atenuam a migração e proliferação de células musculares lisas (56). Por outro lado, podem ocorrer interações complementares entre o perindopril e a amlodipina. Foi demonstrado que a inibição da ECA reduz o edema periférico induzido pelo BCC (57). A nível clínico, a combinação de um inibidor da ECA e um BCC pode potenciar a pressão arterial sistólica (PAS) da aorta central e a redução da pressão de pulso da aorta central (58). Isto é particularmente importante porque as pressões centrais (aórticas, carótidas) são de forma fisiopatológica mais relevantes do que as pressões periféricas para a patogénese das doenças cardiovasculares (59). Isto traduz-se num benefício preditivo para futuros eventos cardiovasculares para além da pressão arterial periférica (60). Alguns BCC podem reduzir a resistência vascular coronária, completando o aumento máximo do fluxo sanguíneo coronário induzido por alguns inibidores da ECA.

As guidelines descrevem a utilização das estatinas em doentes dislipidémicos - nomeadamente aqueles com hipercolesterolemia ou hiperlipidemia mista - e doentes com doença cardiovascular estabelecida (61). As estatinas reduzem os níveis de lipoproteína de baixa densidade (LDL) em 1,8 mmol/l, em média, o que resulta numa redução do risco de doença cardíaca isquémica de 60 % e de AVC de 17 % (62). Em virtude das suas propriedades antiteroscleróticas, as estatinas parecem ser úteis para reduzir o risco, independentemente do nível de base (63). Como resultado, a adição de uma estatina a outros agentes para reduzir o risco cardiovascular é uma estratégia útil na gestão tanto da hipertensão como da doença arterial coronariana.

Evidência clínica da combinação tripla

A combinação de inibidores da ECA, BCC, e estatinas é visivelmente passível de ser implementada. Há também provas experimentais da eficácia e segurança de combinações triplas da atorvastatina, perindopril e amlodipina.

Os resultados do estudo ASCOT também mostraram que a adição de atorvastatina ao regime de amlodipina e perindopril resultou numa maior redução do risco cardiovascular em 3,3 anos em relação ao grupo placebo (64, 65). Dos 19 257 participantes no ASCOT, 10 305 (54%) tinham colesterol total <6,5 mmol/l e foram atribuídos aleatoriamente ao grupo de tratamento com atorvastatina ou ao grupo placebo. Verificou-se que o tratamento com atorvastatina estava associado a uma redução de 53% do risco relativo EM não fatal e doença arterial coronária (DAC) fatal e a uma redução de 27% do risco relativo para o total de eventos cardiovasculares. Posteriormente, 2,2 anos após o término deste estudo, realizou-se um outro estudo num seguimento a longo prazo (65), em que a adição de atorvastatina reduziu as mortes por DAC e EM não fatal em 46%, AVC em 37% e o total de eventos cardiovasculares em 27%, em relação ao placebo.

O estudo prospetivo CORAL (66)- financiado pela Egis Pharmaceuticals- realizado a 5 869 doentes com hipertensão e hipercolesterolemia, durante 3 meses, avaliou a administração da combinação dos 3 fármacos (atorvastatina, perindopril e amlodipina) com diferentes dosagens (em mg): 10/5/5; 20/5/5; 20/10/5; 20/10/10; 40/10/10, respetivamente. Adicionalmente, avaliou-se a eficácia do tratamento na redução da pressão arterial e melhoria do perfil lipídico. No final do mês 3, a pressão arterial média diminuiu de $158,5 \pm 16,7/91,7 \pm 9,4$ para $132,2 \pm 8,3/ 80,1 \pm 6,8$ mmHg. Notavelmente, os valores alteraram proporcionalmente, isto é, valores de base mais elevados exibiram as maiores alterações (**Figura 4**). Apesar da redução significativa da pressão arterial, apenas 72,3% dos doentes hipertensão com grau I, 67,8% com grau II e 52,2% com grau III atingiram o valor alvo. É de salientar que a integração da terapia com estatina, na combinação tripla, conseguiu uma redução adicional e significativa dos níveis de lípidos séricos. Em particular, o colesterol total diminuiu de $6,18 \pm 1,15$ para $5,16 \pm 0,88$ mmol/L, o colesterol LDL de $3,41 \pm 1,01$ para $2,80 \pm 0,82$ mmol/L e os triglicéridos de $2,26 \pm 1,17$ para $1,82 \pm 0,83$ mmol/L. Apesar disto, a redução destes parâmetros lípidos, os valores de colesterol recomendado nas diretrizes apenas foram alcançados numa baixa proporção dos doentes. Nomeadamente, os valores descritos nas diretrizes apenas foram atingindo em 65,9% dos doentes com risco de cardiovascular moderado, 37,6% com risco cardiovascular elevado e

8,5% com risco muito elevado. Pelo facto deste estudo ser observacional, certos parâmetros laboratoriais não estavam disponíveis aos autores e, além disso, não foi possível registar o plano terapêutico pré-existente aquando da inclusão no estudo e efetuar comparações.

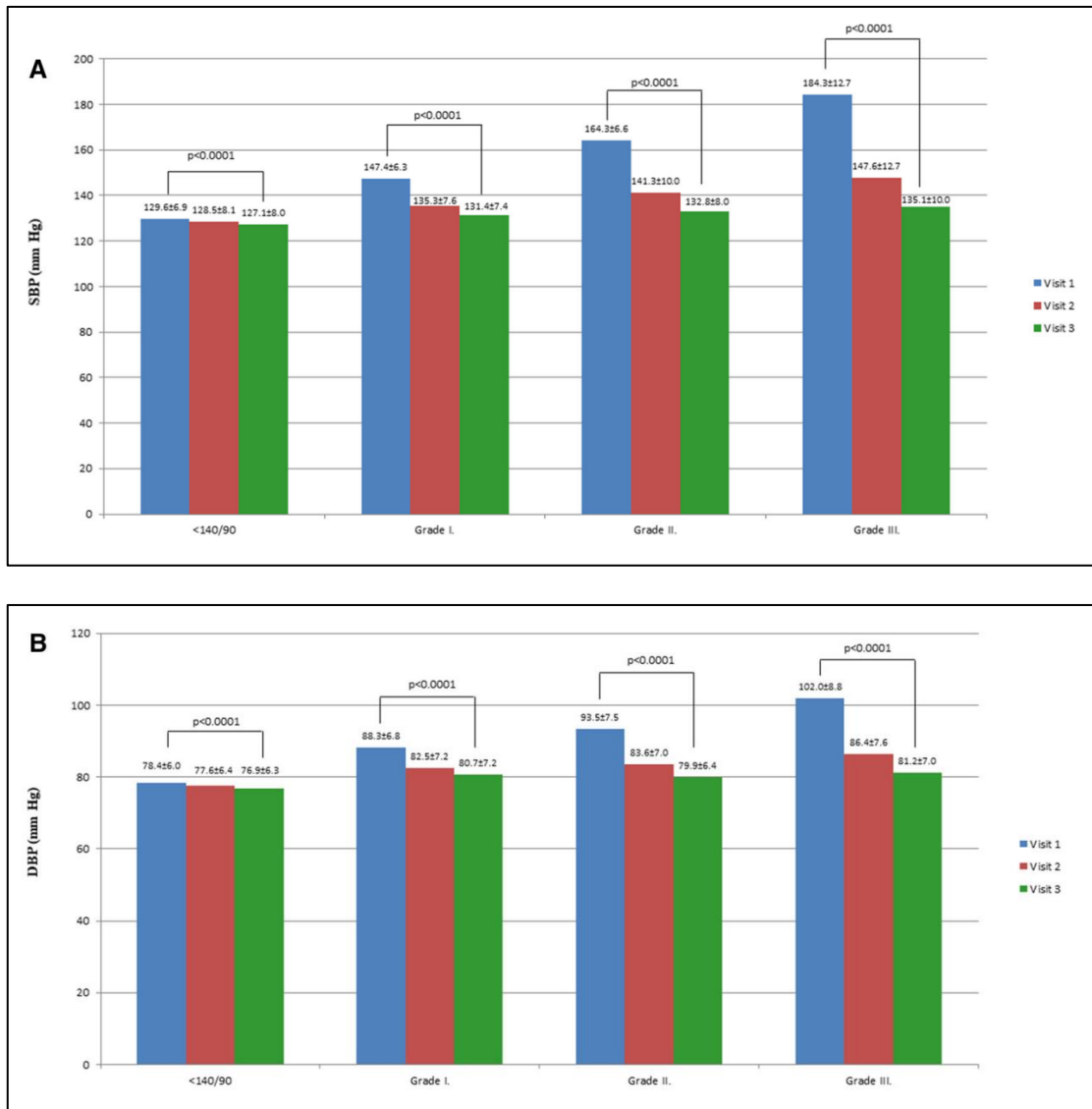


Figura 4 - Diminuição da pressão arterial sistólica (A) e diastólica (B) nos diferentes grupos de doentes hipertensos (normotensos, grau I, grau II, e grau III) ao longo das 3 visitas mensais. Adaptado de Simon et al. (64).

Adesão à terapêutica

Os obstáculos à adesão estão relacionados com a comunicação, a motivação e o estatuto socioeconómico. A motivação do paciente é negativamente afetada por uma compreensão deficiente do estado de desconforto ou doença, bem como pela perceção limitada da necessidade ou benefícios a obter dos medicamentos, ou pelo medo de toxicidade ou eventos adversos relacionados com o tratamento (67).

É da responsabilidade do médico e farmacêutico assegurar tanto uma boa adesão do paciente à terapêutica como a simplificação do regime de tratamento. Os regimes que requerem doses múltiplas por dia têm taxas de aderência significativamente mais baixas do que os regimes de uma ou duas vezes por dia (68). Um estudo comparativo de *polypills* versus medicamentos separados mostrou uma aderência significativamente menor nos doentes que recebem medicamentos separados em comparação com os *polypills*, independentemente de quantos medicamentos concomitantes foram prescritos aos doentes (69). As evidências sugerem que, em pacientes que recebem medicamentos anti-hipertensores e uma estatina, a aderência global é baixa e diminui rapidamente ao longo do tempo. De facto, foi demonstrado que em pacientes que recebem medicação separada as taxas de aderência ao 3º, 6º, e 12º mês eram de 44,7%, 35,9% e 35,8%, respetivamente (70).

Os resultados dos estudos IMPACT (71), UMPIRE (72), Kanyini GAP (73) e FOCUS (74) mostraram taxas de aderência significativamente mais elevadas com *polypills* em comparação com os fármacos separados, em pacientes com alto risco de DCV ou DCV estabelecida. Uma análise que reuniu os resultados de todos estes estudos, documentou que o uso de *polypills* estava associado a uma melhoria global da aderência de 44% em relação à terapia clássica (75).

Conclusão

Com os medicamentos cardiovasculares modernos, a morte prematura e a morbilidade devido às DCV é, na sua maioria, evitável. A evidência da intervenção combinada nos fatores de risco, particularmente a utilização de estatina em pacientes com hipertensão, é convincente. A prevenção das DCV deve começar cedo, sendo que as intervenções no estilo de vida são uma parte essencial de qualquer regime. A aderência é um aspeto importante da gestão dos doentes, com a não aderência a aumentar os eventos cardiovasculares. Desta forma, a combinação tripla de atorvastatina, perindopril e amlodipina oferece uma perspetiva prometedora no tratamento e profilaxia, em indivíduos com risco cardiovascular.

2. Projeto 2 – Cardo Mariano (*Silybum marianum*) e as patologias hepáticas

Introdução

Silybum marianum, comumente designado por cardo mariano, é uma planta da ordem *Asteraceae*, nativa da região mediterrânica e asiática e atualmente em crescimento e cultivo em todo o mundo. É uma planta medicinal cuja história terapêutica remonta a 2000 anos atrás. Na medicina tradicional chinesa, é considerada uma planta com efeitos de limpeza e desintoxicação, promovendo o fluxo biliar. O seu fruto contém um complexo de compostos flavonolignanos biológicos, conhecida como silimarina (ou complexo silimarínico) que apresenta vários efeitos farmacológicos, nomeadamente, hepatoprotetor, anti-inflamatório e antioxidante (76).

De acordo com o *Global Burden of Disease (2017)*, ocorreram 2,14 milhões de mortes devido a doenças hepáticas. Os anos de vida ajustados à incapacidade e anos de vida perdidos devido a doenças hepáticas crónicas, a nível global, foram de 1,6% e 2,1%, respetivamente (77).

Toxinas exógenas e endógenas, incluindo álcool, drogas, desequilíbrios metabólicos e toxinas industriais ou ambientais, causam doenças hepáticas tóxicas (DHT). Estas toxinas causam alterações estruturais e funcionais pronunciadas nos hepatócitos, levando a danos hepáticos. Com base na etiologia, os danos provocados no fígado podem ser associados a diversas doenças hepáticas - incluindo lesões hepáticas induzidas por drogas, doença hepática associada à disfunção metabólica, doença hepática alcoólica (DHA), fibrose hepática e cirrose hepática.

Perfil Fitoquímico

Existem duas variações de *S. marianum*; uma variedade de floração violeta, que contém flavonolignanos com um grupo hidroxilo na posição C-3, os chamados flavonolignanos derivados de taxifolina; e a variedade de floração branca de cardo mariano contendo flavonolignanos não derivados de taxifolina (**Figura 5**).

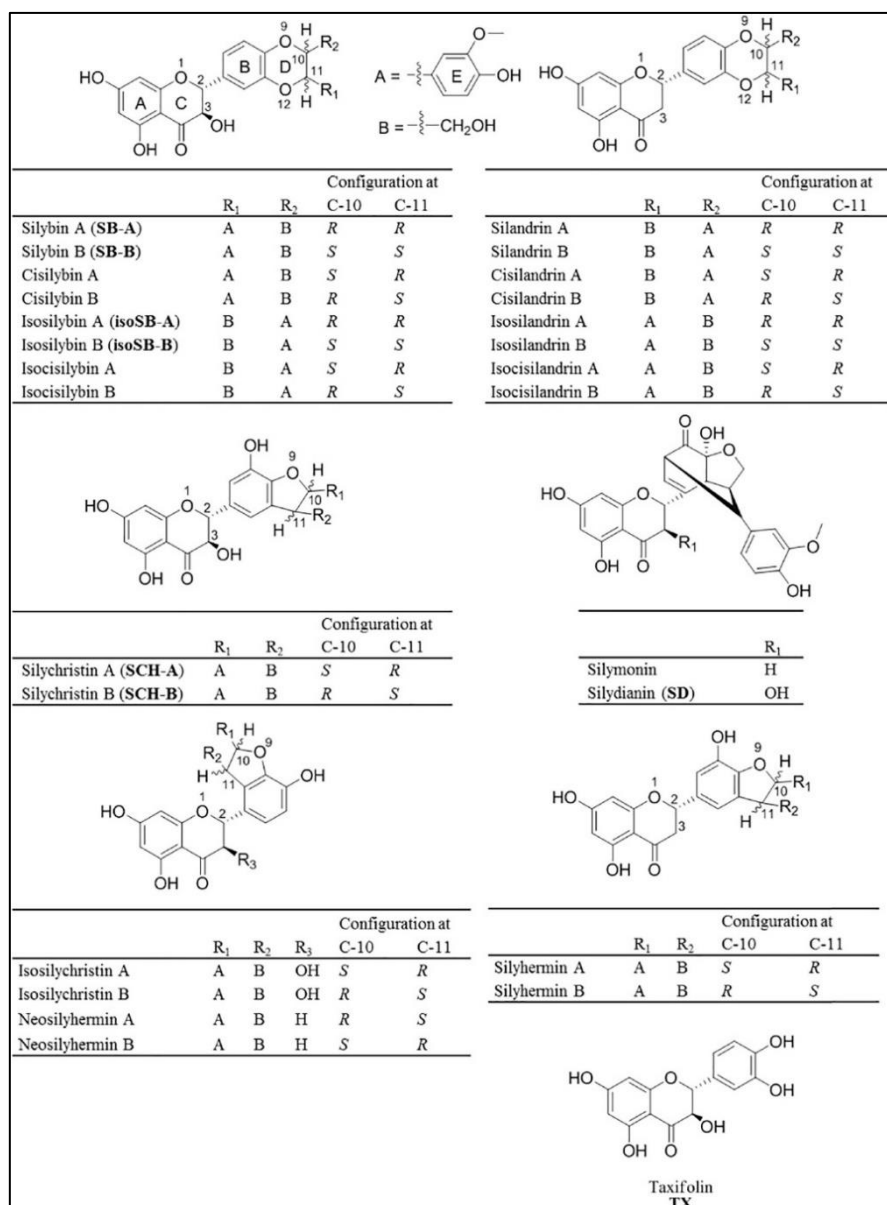


Figura 5 - Estruturas químicas dos diferentes flavonolignanos, ou complexo silimarínico, presentes no Cardo Mariano. Adaptado de Chambers et al (78).

Os flavonolignanos silimarínicos são derivados da taxifolina e álcool conífero por um de dois mecanismos plausíveis (**Figura 6**):

- a) a proposta de Althagafy, que sugere que o álcool conífero forma um único radical, o qual reage com taxifolina e, posteriormente, o produto é ainda oxidado para dar os vários componentes do complexo silimarina (79).
- b) a hipótese tradicional de Freudenburgs, que defende um acoplamento oxidativo radical de um grupo 3', 4'- dihidroxilo do anel B de dihidroflavonol da taxifolina com o radical do álcool conífero. Forma-se um radical livre de taxifolina de um elétron. Posteriormente, este reage com um radical livre de álcool conífero para fornecer o intermediário, que cicliza através do ataque do nucleófilo do fenol ao

sistema de quinona de metano para formar os dois flavonolignanos trans diastereoméricos, denominados silibina A e silibina B (80).

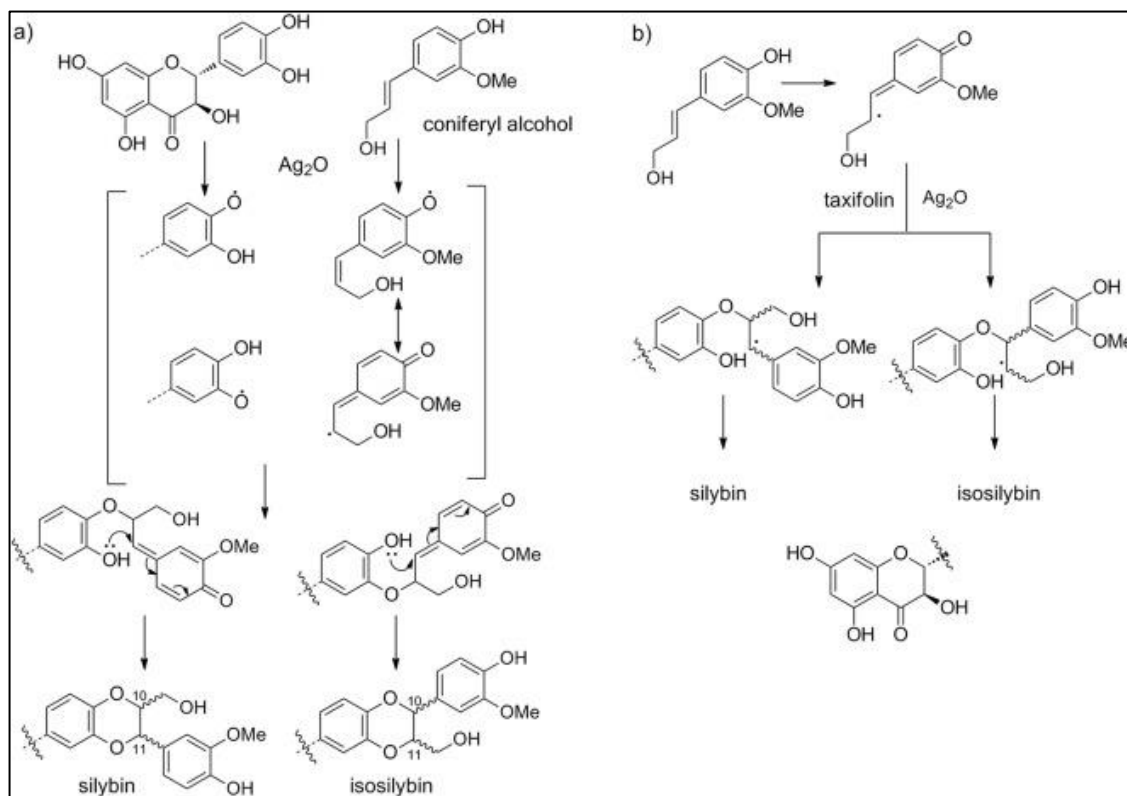


Figura 6- a) Acoplamento oxidativo biomimético proposto por Althagafy. b) Formação dos componentes da silimarina segundo a hipótese de Freudenberg. Adaptado de Chamber *et al.* (76).

Num estudo com o intuito de separar e quantificar os diferentes constituintes da silimarina, concluiu-se que os principais constituintes do complexo silimarínico são a silicristina, a silidianina, a silibina A e B, e a isosilibina A e B (81). Estes 6 constituintes representam entre 57% e 71% da massa de um extrato padronizado de Cardo-Mariano e entre 70% a 80% da massa do extrato de silimarina (82). É de notar que o teor e constituição do complexo silimarínico depende fortemente da cultura e da localização geográfica do cultivo da planta (propriedades físicas do solo, clima), e das condições agronômicas (sementeira, fertilização, irrigação, época de colheita, maturação dos frutos) (83). Desta forma, a caracterização analítica dos componentes de silimarina é um processo crucial de cada estudo biológico. Se isto não for realizado, quaisquer resultados da biodisponibilidade, farmacocinética e farmacodinâmica do complexo silimarínico serão vagos e irrepetíveis.

Farmacocinética

1. Absorção

Em ratos, a silimarina administrada por via oral é rapidamente absorvida pelas células do trato gastrointestinal em todas as partes do intestino (84). Demonstrou-se que a biodisponibilidade da silibina administrada por esta via é realmente baixa (0,95%) (85).

Apesar de ter muitos grupos hidrofílicos na sua estrutura, a solubilidade da silibina é geralmente baixa na água e melhor nos solventes lipídicos. A silibina é também mais lipofílica do que a silidianina e a silicristina (86). Por um lado, a solubilidade lipídica relativamente boa predispõe a silimarina para uma boa penetração nas células do trato gastrointestinal. Por outro lado, a silibina é substrato de transportadores de efluxo e a permeabilidade é limitada (87, 88).

2. Distribuição

Após a entrada nas células intestinais, a silimarina passa por uma conjugação rápida, glucuronidação primária. De facto, no plasma humano, a concentração no plasma é máxima por volta da 1ª e 3ª hora, as porções médias de silimarina totais livres, sulfatadas e glucuronadas são aproximadamente 17%, 28% e 55%, respetivamente (82, 89).

Uma relação linear entre a dose oral do extrato padronizado e a concentração plasmática máxima em voluntários humanos saudáveis, foi sugerida em vários estudos. De facto, depois de todos os dados publicados serem transformados em forma de gráfico, verificou-se que existia uma relação linear (**Figura 7**). O pico da concentração plasmática atingiu o seu máximo dentro de 1-1,5h, e após 12h foram relatadas concentrações negligenciáveis (90).

Apesar do conhecimento existente do efeito da silimarina sobre o fígado, a administração oral de silibina resultou numa distribuição baixa (1%-2%) do composto pelo fígado do rato. No entanto, a distribuição pelo coração, músculos, rins, baço e tecido adiposo também foi baixa (1%-3%), de acordo com a baixa biodisponibilidade descrita (91).

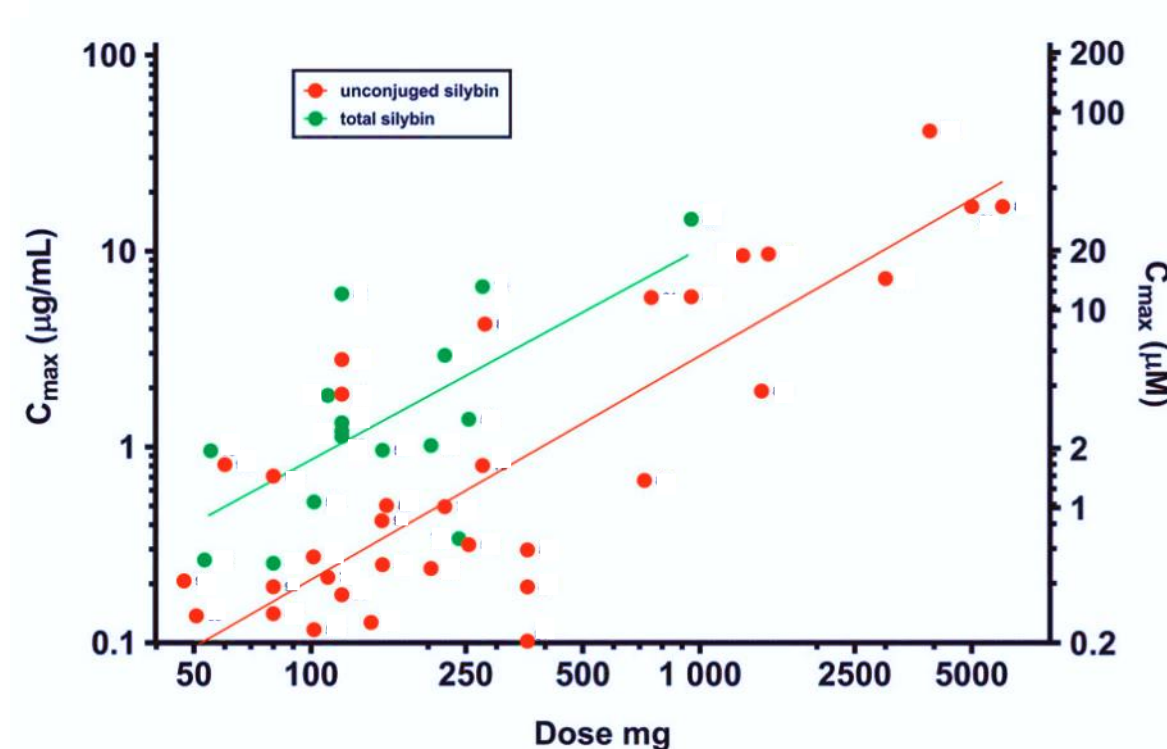


Figura 7 - Concentrações plasmáticas de silibina publicadas em vários estudos realizados em humanos. Adaptado de Tvrđý et al (90).

3. Metabolismo

O metabolismo hepático da fase I dos flavonolignanos tem sido documentado por várias experiências *ex vivo*, contudo, o seu impacto em condições *in vivo* parece ser bastante baixo. Mesmo *in vitro*, a extensão do metabolismo da fase I não excedeu 1%-2% do substrato após 30 minutos de incubação. Foram identificadas várias reações de fase I catalisadas por enzimas do citocromo P450. Em geral, os diferentes isómeros foram substratos para várias isoformas do citocromo P450 (90). Num estudo realizado em hepatócitos humanos não foram detetados metabolitos de fase I para silibina, silicristina e para isosilibina A, e apenas quantidades marginais para isosilibina B (92).

O papel fundamental das reações de fase II foi confirmado em vários modelos *in vivo* correspondendo de forma mais semelhante à situação real. Uma maioria significativa dos flavonolignanos detetados no plasma ou na urina eram conjugados (85). A extensão da conjugação foi muito elevada em humanos (83% do total de silimarina plasmática, 99% da fração de urina) (82, 93). No entanto, existem diferenças substanciais entre os diferentes isómeros. No plasma humano, a silibina A foi principalmente detetada na sua forma livre (60%), a isosilibina B foi 81,5% conjugada e a silidianina foi completamente conjugada (100%) (82).

O transporte de conjugados do fígado para a circulação sistêmica é marginal em comparação com o transporte para a bÍlis. Uma exceção parcial foi apenas a isosilibina A, cujo transporte para a circulação sistêmica foi o mais elevado dos flavonolignanOs testados (82). Estudos com pacientes colostomizados confirmou-se a excreção substancial de conjugados para a bÍlis. Não foram encontradas silibina, silicristina e silidianina livres detetáveis. A excreção biliar máxima foi observada 2-4 h após a administração, e a maioria dos flavonolignanOs foram excretados no prazo de 12 h (94, 95).

Os conjugados de silimarina transportados por fluxo biliar para o trato intestinal, podem ser clivados por bactÉrias β -glucuronidases, restaurando os flavolignanOs primários, e como resultado podem ser reabsorvidos. A circulação enterohepática resulta em picos secundários no plasma, que apareceram regularmente (a cada 3-6 h), tanto em ratos como em humanos. A silibina A, a silibina B e a silicristina parecem ser as mais influenciadas por este fenômeno (82, 96).

4. Eliminação

A maior proporção dos flavonolignanOs ingeridos é excretada através das fezes. Embora a excreção renal seja apenas uma pequena via de eliminação dos flavolignanOs, em comparação com a excreção biliar e fecal, os flavonolignanOs excretados na urina refletem a quantidade absorvida e, desta forma, é possível avaliar a biodisponibilidade.

A excreção urinária inicial de silibina livre e isosilibina é rápida, mas de baixa magnitude, uma vez que apenas foram observados pequenos picos após 2 h. Mais tarde, surgem picos secundários: para os diastereómeros da silibina (após 15 h), e para a isosilibina (após 24 h). Picos de concentrações urinárias de monoglucuronídeos também foram encontrados após 2 h. Os picos adicionais após 24-28 h e 32-39 h, sugerem a existência da circulação enterohepática supracitada (93).

Farmacodinâmica

1. Propriedades antioxidantes

A produção de ROS é uma consequência natural de uma variedade de reações bioquímicas essenciais no fígado, na sua maioria relacionadas com os processos envolvidos na desintoxicação. A exposição a altos níveis de toxinas (por exemplo, álcool, drogas hepatotóxicas) ou a oxidação intensiva de ácidos gordos livres (isto é, resistência à insulina) leva à produção anormal de ROS; os antioxidantes endógenos também podem

ficar esgotados. É amplamente reconhecido o potencial pró-oxidativo do etanol e o seu efeito em vários tipos de células, incluindo hepatócitos, células Kupffer e células endoteliais (97). O consequente desequilíbrio com a presença persistente de ROS não neutralizados provoca *stress* oxidativo, que está implicada na patogénese de uma variedade de doenças hepáticas, incluindo a fibrose hepática (98).

A silimarina pode aumentar a produção de glutathione no fígado através de um aumento da disponibilidade de cisteína para a sua biossíntese, o que contribui subsequentemente para o aumento da sua capacidade antioxidante nos tecidos hepáticos (99); estabilizar a permeabilidade da membrana através da inibição da peroxidação lipídica, mantendo os níveis de glutathione (99); proteger contra lesões de vários químicos tóxicos, como o tetracloreto de carbono, por exemplo, inibindo a produção de fatores de necrose tumoral alfa (TNF- α), interferon-gama, interleucina (IL) 2 e IL-4 como consequência inibição da fosforilação do p65, na via de ativação do NF- κ B (100, 101); restaurar a homeostase do dinucleótido de nicotinamida e adenina (reduzido), a atividade da sirtuina 1 (SIRT1) e a via da proteína quinase ativada por adenosina monofosfato para melhorar a função da poli adenosina difosfato ribose polimerase (PARP)(102); melhorar a homeostase lipídica hepática através da diminuição da lipogénese *de novo* através da desregulação do recetor ativado pelo proliferador peroxissómico γ (PPAR γ), da carboxilase de acetil coenzima A e da síntese de ácidos gordos (102, 103); e, induzir a via Nrf2/Keap1/ARE (104).

2. Propriedades anti-inflamatórias

A inflamação crónica tem sido associada à fibrose hepática progressiva e ao desenvolvimento da cirrose podendo ser, o *stress* oxidativo, o mecanismo subjacente comum no início e progressão da inflamação hepática em várias doenças hepáticas (77). O NF- κ B é um importante regulador transcricional da resposta inflamatória e desempenha um papel essencial na regulação das vias de sinalização inflamatória no fígado. Além disso, o NF- κ B é ativada em praticamente todas as doenças crónicas do fígado, incluindo DHA (105), esteatose hepática associada à disfunção hepática (MAFLD) (106), hepatite viral (107) e doença hepática biliar (108).

A silimarina apresenta efeitos mediados por ADN/ácido ribonucleico nuclear, através da supressão da translocação e ligação do NF- κ B - possivelmente pela inibição da atividade da MEKK1 e consequente inibição da fosforilação do I κ B α (109); em ratos

tratados com fumonisina, a silimarina suprimiu o TNF- α , o recetor 1 do TNF e o ligando indutor de apoptose relacionado com TNF, bem como a apoptose hepática associada e libertação de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) para o plasma (110); demonstrou inibir significativamente a expressão de TNF- α e IL-4 num modelo de hepatite aguda em ratos (111); inibe a via da 5-lipooxigenase e a formação de leucotrienos nas células Kupffer in vitro (112). A silimarina pode ainda inibir a expressão de moléculas de adesão (VCAM-1, ICAM-1 e E-seletina) em células endoteliais, necessária para a migração de leucócitos (113); in vitro, restaurou a via IRS-1/PI3K/Akt, que pode reduzir a resistência à insulina induzida pelo MAFLD e a esteatose hepática (114); in vitro, ativou o recetor farnesil X, que por sua vez pode diminuir a inflamação hepática (115); e, diminui a fosforilação das cinases c-Jun N-terminal (116).

3. Propriedades anti-fibróticas

A fibrogénese hepática, que resulta de lesões crónicas do tecido hepático, é caracterizada pela ativação de células esteladas hepáticas (CEH). As CEH ativadas desenvolvem-se em miofibroblastos, que são responsáveis pela deposição de fibras de colagénio que levam à cirrose hepática. Num modelo in vitro de fibrogénese hepática humana, a silibina demonstrou propriedades antifibrogénicas ao inibir (de forma dose-dependente) a produção de pró-colagénio em CEH ativadas (117). O poder anti fibrótico da silimarina foi também confirmado num estudo, em babuínos, alimentados com uma dieta líquida nutricionalmente adequada contendo álcool (correspondente a 50% das calorias diárias ingeridas) e silimarina durante 3 anos. Esta dieta resultou num aumento de colagénio tipo I em amostras de biópsia hepática. No grupo tratado com silimarina observou-se uma diminuição nos níveis de colagénio tipo I e ácido ribonucleico mensageiro (mRNA) de pró-colagénio levando a uma menor incidência de fibrose e cirrose (118).

Evidência clínica

Após serem reportados os efeitos hepatoprotetores da silimarina, um grupo de investigadores avaliou a eficácia desta (140mg tid) na prevenção da hepatotoxicidade induzida por fármacos anti-tuberculose, em pacientes com tuberculose. Desta forma analisaram a concentração das enzimas hepáticas, ALT e AST; marcadores antioxidantes, superóxido dismutase (SOD), malondialdeído (MDA), glutathione (GSH), no plasma; os

níveis de bilirrubina no soro; e, os sintomas indicativos de hepatotoxicidade induzida por drogas, segundo a OMS. Após 4 semanas, os níveis medianos de ALT (32 UI/L no grupo de tratamento e 35 UI/L no grupo de placebo, $p=0,455$) e AST (26 UI/L no grupo de tratamento e 29 UI/L no grupo de placebo, $p=0,888$) no grupo de tratamento não sofreram uma alteração significativa em relação ao grupo placebo; a incidência de hepatotoxicidade induzida por drogas foi de 3,7%, e 32,1% no grupo de placebo; os valores de bilirrubina total e bilirrubina direta tiveram valores similares entre os dois grupos; a variação dos valores medianos de GSH (-0,09 ng/ul e -0,11ng/ul, $p=0,83$) e MDA (-0,14nmol/L vs -9,74nmol/L, $p=0,22$) foram reduzidos enquanto que os valores de SOD tiveram interesse estatístico ao diminuírem menos no grupo de tratamento (-0,20% no grupo de tratamento e -4,41% no grupo placebo, $p=0,027$). Por conseguinte, a manutenção dos valores de SOD pode explicar os benefícios do uso de silimarina na prevenção da hepatotoxicidade induzida por fármacos anti-tuberculose (119).

Um outro estudo teve o intuito de avaliar o uso de silimarina (700mg tid) no tratamento de esteatose hepática não-alcoólica, durante 48 semanas. Esta patologia é a forma mais severa da MAFLD, que pode progredir para cirrose. Neste sentido avaliou-se, adicionalmente, o impacto do tratamento com silimarina na fibrose hepática. Desta forma, analisaram, primeiramente, o *NASH and NAFDL (=MAFLD) Activity Score* e, posteriormente, vários parâmetros entre os quais a esteatose hepática, inflamação lobular, balonização dos hepatócitos, fibrose, e o perfil lipídico e hepático. Não se obtiveram diferenças significativas a nível das enzimas hepáticas, ALT e AST, o que vai de encontro à correlação existente entre as enzimas hepáticas e a esteatose hepática não alcoólica (120). Houve uma diminuição a nível da inflamação lobular, balonização dos hepatócitos e no *NASH and NAFDL Activity Score* em ambos os grupos. No entanto, observou-se melhorias significativas na fibrose no grupo sob tratamento em relação ao grupo de placebo e, adicionalmente, uma diminuição na progressão para cirrose no grupo de tratamento (121).

Com o objetivo de avaliar o poder antiviral da silibina A e B, Ferenci *et al.* analisaram a capacidade destes compostos como possível tratamento em pacientes com hepatite C, que não respondem ao tratamento com interferão-peguilado/Ribavarina. Observou-se, então, que nos pacientes tratados com silibina A e B IV houve um declínio do RNA do vírus, no soro. Apesar destes resultados promissores o estudo foi interrompido, uma vez que a hipótese primária do estudo era aumentar a sensibilidade ao tratamento com interferão, e esta hipótese não foi concretizada neste estudo (122). Posteriormente,

estudou-se a possibilidade da silibina A e B IV prevenir recaídas do vírus da hepatite C em pacientes que não respondem ao tratamento com interferão-peguilado/Ribavarina, após transplante de fígado. Neste estudo, a carga viral diminuiu consideravelmente após 14 dias de tratamento (média de $-2.30 \log_{10}$ UI/L), não sendo suficiente para induzir a erradicação do vírus (123).

Conclusão

O elo entre a silimarina e as patologias hepáticas deriva da evidência clínica, que ao longo do tempo, induziu a investigação deste complexo. Primeiramente, de forma empírica e, de seguida, de forma científica, os mecanismos referentes aos efeitos terapêuticos observados *in vitro*. Os estudos de farmacocinética e farmacodinâmica da silimarina melhoraram nos últimos anos, e com isto, a sua aplicabilidade em diferentes patologias, especialmente patologias hepáticas. Analisando a literatura existente, o efeito demonstrado pela silimarina mostra o seu potencial uso nas diferentes patologias hepáticas. De facto, a silimarina apresenta uma tríade de atividades de grande relevo: anti-inflamatório, antioxidante e anti fibrótico. Não obstante, o tratamento com silimarina na prática clínica é fortemente limitada por vários obstáculos. Qualquer pesquisa sobre os efeitos da silimarina deve compreender a complexidade química de um extrato botânico. Assim, é sempre necessário o esclarecimento sobre a quantificação e concentração dos diferentes isómeros do complexo silimarínico utilizado. De seguida, deve compreender uma comparação dos efeitos demonstrados pela silimarina e dos seus isómeros isolados. Desta forma as características farmacodinâmicas e farmacocinéticas dos isómeros puros irá elucidar para os potenciais efeitos terapêuticos deste complexo. Por fim, a correlação dos efeitos da silimarina é fortemente limitado, uma vez que é necessário obter dados científicos derivados de ensaios bem estruturados baseados em grandes populações de pacientes, e conseguir uma padronização dos métodos utilizados para avaliar a eficácia terapêutica.

4. Projeto 3 – Alopecia Androgenética: Prostaglandinas

Introdução

A alopecia androgenética (AA), também conhecida como alopecia de padrão masculino ou alopecia de padrão feminino, é definida por um padrão de diminuição gradual, não cicatricial, do folículo piloso. É uma patologia dermatológica prevalente que afeta a qualidade de vida e a autoestima dos portadores. Surge gradualmente, e a sua frequência e gravidade aumentam com a idade. A conversão de cabelos terminais em pelos é causada pelo encurtamento progressivo dos folículos capilares. A fase telegénica prolonga-se cada vez mais enquanto a fase anagénica encurta; dado que a sua duração controla o comprimento do cabelo, o cabelo novo torna-se mais curto e mais fino (124-128).

A AA masculina é uma patologia andrógeno-dependente, com uma forte componente hereditária. Os androgénios têm capacidade de aumentar os folículos pilosos em zonas androgeno-dependentes, como por exemplo o rosto, axilas, e zona púbica. Contudo, paradoxalmente, induzem a miniaturização do folículo capilar do couro cabeludo e diminuem o crescimento do cabelo em indivíduos suscetíveis (124, 126, 127). A etiologia da AA feminina é poligénica e complexa, com variáveis ambientais a desempenhar um papel importante no seu desenvolvimento. O papel dos andrógenos permanece algo ainda superficialmente desenvolvido; no entanto, as doenças associadas ao hiperandrogenismo podem causar a rápida queda de cabelo nas mulheres (124). A AA masculino tem um padrão distinto, com a queda de cabelo frequentemente confinada às áreas anterior, média, temporal e vértice. O padrão habitual de AA feminino começa com uma diminuição da densidade do cabelo na zona média frontal ou parietal. É invulgar ver a queda de cabelo na região temporal. (126-128).

As prostaglandinas são membros da família dos eicosanóides, que na maioria das vezes atuam como hormonas locais. A família dos eicosanóides engloba várias classes de mediadores biológicos importantes, incluindo tromboxanos, leucotrienos, lipoxinas, fator ativador de plaquetas (PAF) e prostaglandinas. Estes mediadores não são armazenados em células, e a sua síntese depende da libertação de ácido araquidónico dos fosfolípidos membranares, por fosfolipases, que são ativados por estímulos físicos, químicos e hormonais. As prostaglandinas D₂, E₂ e F₂α foram documentadas pelos seus efeitos na regulação capilar. A PGD₂ apresenta efeitos inibitórios a nível do crescimento capilar, enquanto a PGE₂ induz o alongamento capilar e a PGF₂α estimula os folículos capilares a

iniciar o ciclo capilar. O minoxidil, um potente agente tricogénico, tem capacidade moduladora positiva sob a COX-1, sugerindo uma ligação entre a síntese de prostaglandina e o crescimento de cabelo (129).

Ciclo capilar

O folículo capilar é um complexo “mini-orgão” que produz cabelo *per se* a partir de queratinócitos diferenciados. Em associação com a glândula sebácea, a glândula apócrina e o músculo eretor do pelo, o folículo piloso forma a unidade pilossebácea. Recentemente, foi demonstrado que as glândulas écrinas também estão integradas nessa unidade, no couro cabeludo (130). Os folículos capilares do couro cabeludo agrupam-se para formar unidades pilossebáceas, consistindo num folículo primário e num ou mais folículos secundários associados a um único músculo eretor do pelo e a uma única glândula sebácea. Todos os pelos de uma unidade folicular emergem através de um infundíbulo comum (131-133).

O folículo piloso é uma estrutura complexa que integra tecidos que surgem embriologicamente da ectoderme, da neuroectoderme e da mesoderme. As células epidérmicas e mesenquimais integram-se, proliferam, diferenciam-se e percorrem fases do ciclo capilar denominada anagénesse, catagénesse e telogénese. O processo da “queda do cabelo” denomina-se exogénese.

Na anagénesse, os queratinócitos da matriz capilar, que representam células amplificadoras transitórias derivadas das células estaminais epiteliais do folículo piloso no bulbo capilar, proliferam intensamente e diferenciam-se em linhagens capilares epiteliais distintas. Durante a catagénesse, os dois terços inferiores do folículo piloso regridem rapidamente, principalmente por apoptose da matriz - bainha interna da raiz e queratinócitos da bainha externa da raiz. Durante este processo, o folículo piloso inferior fica reduzido a um fio epitelial, aproximando a papila dérmica (PD) do bulbo capilar. Após a conclusão da catagénesse, os folículos capilares entram num período quiescente, a telogénese. A primeira telogénese tem a duração de vários dias e a segunda, usualmente, dura mais de 3 semanas. Com cada ciclo adicional a duração da telogénese expande, e o ciclo do folículo piloso abranda consideravelmente no envelhecimento. No Homem, o ciclo sincronizado do folículo piloso fetal torna-se assíncrono logo após o nascimento, tornando únicos todos e cada um dos ciclos dos diferentes folículos capilares (134, 135).

Etiologia

A miniaturização do folículo piloso é a marca distintiva da alopecia androgenética. Ocorre num momento entre o final da catagénese e o início da anagénesse, afetando a PD e a bainha dérmica, que resulta num folículo mais pequeno e numa fase anagénica reduzida. A condição está associada à atividade das hormonas androgénicas, à predisposição genética, à microinflamação do bulbo e à desregulação do musculo eretor do pelo.

1. Predisposição genética

A variabilidade da expressão genética, entre os indivíduos, explica porque alguns têm queda de cabelo prematura enquanto outros apenas mostram os sinais da patologia perto dos 60 anos. Esta patologia demonstra um padrão de agregação familiar, mas pode ocorrer em vários indivíduos dentro de uma família sem herança monogénica, e é, portanto, considerado um fenótipo complexo. Estudos com gémeos demonstraram uma hereditariedade de 81%, sugerindo que a genética desempenha um papel importante na sua apresentação e progressão (136-138).

Tem sido relatado casos de alopecia androgenética em crianças dos 6 aos 8 anos, e, nestes casos, a predisposição genética é considerada crucial (139). É mais provável que esta patologia se desenvolva em caucasianos do que noutras populações, como por exemplo nos mongóis, orientais, negros, nativos americanos e afro-americanos (140).

Estudos de meta-análise de associação de genoma identificaram 63 regiões genómicas de interesse, incluindo genes envolvidos na desregulação da transição de anagénesse para catagénese (FGF5, EBF1, DKK2), aumento da sensibilidade ao androgénio (SRD5A2), e a transformação de cabelo terminal pigmentado em pelo *vellus* não pigmentado (IRF4) (141). Outros estudos enalteceram a relevância do locus AR/EDA2R do cromossoma X, o locus PAX1/FOXA2 no cromossoma 20, a deacetilase 9 no cromossoma 7p21.1, a deacetilase 4 no cromossoma 2q37 e o WNT10A no cromossoma 2q35 (142-144) (**Figura 8**).

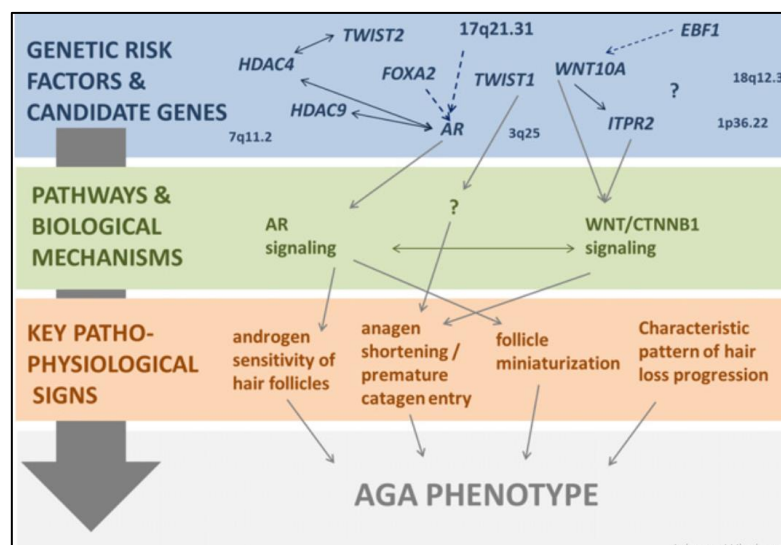


Figura 8- Potencial contribuição dos fatores de risco genético para as características fisiopatológicas da alopecia androgenética. Adaptado de Heilmann-Heimbach et al (144).

A expressão de AR e EDA2R foi definida em folículos de cabelo humano, embora até à data os dados não sejam totalmente esclarecedores (144). Ambas as proteínas PAX1/FOXA2 são fatores de transcrição importantes em termos de desenvolvimento e foi sugerido que desempenham um papel de controlo do ciclo capilar, no entanto a hipótese não foi confirmada (145). Ambos os HDAC desempenham um papel na regulação da sinalização dos recetores androgénicos através da interação direta ou indireta com o recetor, indicando que os HDAC podem contribuir para a miniaturização dos folículos capilares induzida por androgénios (144). WNT10A mostra uma redução significativa da expressão nos folículos pilosos, sugerindo que o alelo de risco genético neste local pode contribuir para a entrada prematura na fase catagénica e pelo período prolongado de latência entre a catagénese e a reentrada na fase anagénica nos folículos pilosos afetados (146).

2. Desregulação do músculo eretor do pelo

O músculo eretor do pelo desempenha um papel importante na manutenção da integridade folicular, mantendo cada um dos folículos capilares juntos numa unidade folicular ao nível do istmo. Torkamani *et al.* descobriram que o músculo eretor do pelo degenera e é substituído por tecido adiposo na alopecia androgenética. No entanto, não é evidente como a degeneração do músculo eretor do pelo e a infiltração de gordura estão mecanisticamente relacionadas com a miniaturização do folículo e a queda de cabelo. Especula-se que os adipócitos derivados da diferenciação anormal das células progenitoras remanescentes no músculo eretor do pelo possam causar a miniaturização do folículo. As

células progenitoras mesenquimais, no tecido muscular, com deposição de gordura ectópica sugerem que a perda de sinais inibitórios derivados da miofibra nos músculos degenerados permite a diferenciação celular adiposa (147-150).

Yazdabadi *et al.* sugeriram que o músculo eretor do pelo serve como fonte de células estaminais para manter o folículo, estimulando as populações de células estaminais no bulbo ou na bainha dérmica. A perda de contacto nos folículos miniaturizados entre o músculo pili e o bulbo produz miniaturização ao perturbar a função das células estaminais residentes no folículo (151).

3. Microinflamação do bulbo

A microinflamação folicular e a fibrose também podem estar envolvidas no desenvolvimento da alopecia androgenética. A miniaturização dos pelos terminais está frequentemente associada a infiltrações quer de células dendríticas quer de células T ativadas sobre o bulbo folicular, e a fibrose progressiva da bainha perifolicular (152).

Os potenciais fatores desencadeantes da microinflamação podem ser a flora microbiana residente no caso de seborreia associada, toxinas e/ou stress oxidativo, o processo de envelhecimento, a exposição à radiação ultravioleta, o tabagismo, e poluentes ambientais (153). Assume-se que respostas inflamatórias cumulativas à atividade microbiana e ao stress podem danificar os tecidos normais dos folículos. Além disso, a ativação do 77rogénico (RA) pode promover a resposta inflamatória através da promoção de libertação de interleucina 6 (154). Um estudo recente mostra que a interação androgénio-RA pode induzir a senescência prematura das células da PD através de danos no ADN, que promove a libertação dos detritos celulares pode subsequentemente suscitar uma resposta inflamatória (155).

4. Hormonas androgénicas

A alopecia androgenética assume-se como resultado da sensibilidade anormal dos folículos capilares do couro cabeludo aos andrógenos circulantes, devido a um aumento do número de recetores andrógenos. Os andrógenos circulantes incluem sulfato de desidroepiandrosterona (DHEA-S) e androstenediona, que são produzidos principalmente nas glândulas supra-renais, e testosterona e 5 α -dihidrotestosterona (5DHT) que são principalmente sintetizadas nas gónadas. Existem níveis séricos elevados semelhantes de DHEAS-S e androstenediona tanto em homens como em mulheres, que são considerados

como os mais importantes reguladores da secreção sebácea. Em contraste, os níveis séricos relativamente baixos níveis séricos de testosterona e 5DHT em adultos são entre 3 a 10 vezes e até 15 vezes mais elevados mais elevados, respetivamente, nos homens quando comparados com os das mulheres (156). A 5DHT é gerada a partir da testosterona pela enzima esteróide 5 α -redutase (5 α R), em certos tecidos, incluindo a glândula prostática, vesículas seminais, pele, folículos pilosos, fígado, e cérebro (157). A 5DHT liga-se ao RA com maior afinidade do que a testosterona e desempenha um papel importante nos efeitos dos andrógenos na periferia. A enzima 5 α -redutase tem duas isoformas, tipos 1 e 2, que catalisam a conversão da testosterona em 5 α -dihidrotestosterona. Estas isoformas desempenham um papel no metabolismo e ação do androgénio, e a sua expressão varia dependendo do local do corpo. A expressão de 5 α -redutase tipo 1 é mais elevada nos folículos capilares, sugerindo que desempenham um papel fundamental no crescimento do cabelo (158-160).

A pele é considerada como um órgão que expressa e sintetiza quantidades significativas de andrógenos e enzimas associadas a ações autócrinas e parácrinas (156). Geralmente, os níveis de andrógenos circulantes, tanto em doentes masculinos como em femininos, com alopecia androgenética, apesar de alterados não são significativamente diferentes dos controlos sem perda de cabelo (161). Contudo, no couro cabeludo calvo, a conversão de testosterona em 5DHT é localmente aumentada devido a uma regulação positiva de 5 α R (162). Os RA são reconhecidos como sendo expressos pelas células da PD dos folículos pilosos, indicando que a conversão de 5DHT, mediada por 5 α R, e os efeitos da ligação 5DHT-RA podem inicialmente ter impacto sobre a papila dérmica, e potencialmente sobre as células ORS dos folículos pilosos, que depois, por sua vez, modulam o crescimento das células epiteliais capilares para induzir a miniaturização dos folículos pilosos (162). De facto, foi demonstrado que os andrógenos suprimem a diferenciação *in vitro* das células estaminais do folículo piloso (163). Por conseguinte, a papila dérmica e a bainha exterior da raiz são os principais locais de ação androgénica nos folículos capilares (164).

Os recetores de androgénio intermedeiam a ação do 5DHT através da transcrição e controlo da tradução de proteínas celulares (162). Notavelmente, as células da papila dérmica do couro cabeludo enfraquecido contêm concentrações mais elevadas de AR e coativador de AR, Hic 5/ARA55, o que potencia o aumento da sensibilidade à sinalização de androgénio (165). As diferenças na densidade do RA e expressão do cofator nas células

também podem ser responsáveis pelas diferentes apresentações clínicas de AA em mulheres e homens (162).

Como descrito anteriormente, foi demonstrado que o androgénio suprime o crescimento de células epiteliais foliculares através da indução da secreção de mediadores patogénicos, o fator de transformação do crescimento beta (TGF- β) 1 e 2 e o fator inibidor de sinalização Wnt dickkopf 1 pelas células da PD (165). Há ativação recíproca dos RA e antagonismo da sinalização Wnt/ β -catenina em células do bulbo folicular do pelo durante o desenvolvimento epidérmico do rato (166). Para complementar, foi revelado que os andrógenos suprimem a diferenciação capilar em doentes com através da inibição da via de sinalização Wnt (163). Os estudos com ratos e humanos sugerem que a sinalização entre o 5DHT-RA interfere com as vias de desenvolvimento do folículo piloso, particularmente a via Wnt, para induzir a miniaturização do folículo piloso. Notavelmente, a perda progressiva do cabelo é acompanhada por uma redução do tamanho e do número de células da PD do folículo capilar (167). A sinalização de Wnt e BMP define a atividade indutiva capilar das células da PD (168, 169), salientando que a ligação 5DHT-RA causa a miniaturização e a perda capilar ao visar as células da PD e o diafragma entre as células PD e os queratinócitos. Apesar dos importantes avanços no conhecimento geral, há ainda muitos aspetos da influência dos andrógenos no folículo capilar que não estão esclarecidos, e são necessários futuros desenvolvimentos na investigação.

Papel das prostaglandinas

A síntese e metabolismo das prostaglandinas é uma área de grande relevo, não só pela sua importância na biologia da pele, como também na inflamação. A cascata começa com os fosfolípidos de membrana, que são metabolizados por fosfolipase em ácido araquidónico. Este lípido é o substrato de uma série de diferentes vias, incluindo os leucotrienos e as enzimas cicloxigenase, COX1 e COX2. As enzimas da ciclooxigenase produzem PGH₂, que é seletivamente convertida em diferentes prostaglandinas através de várias enzimas específicas. As enzimas de síntese da prostaglandina são expressas de forma difusa na pele, incluindo folículos pilosos (170).

O papel da prostaglandina D₂ sintase (PTGDS) na biologia do cabelo foi inicialmente identificado num rastreio onde se comparou o couro cabeludo com o couro cabeludo em doentes masculinos com AA, utilizando o couro cabeludo do próprio doente como controlo interno para cada análise. Esta enzima apresentou uma notória diferença de

concentração entre o couro cabeludo calvo e o couro cabeludo dos indivíduos com AA, com vantagem para o primeiro. Por conseguinte, esta descoberta sugere que o PGD2, o produto do PTGDS, seria elevado no couro cabeludo careca dos homens. A PTGDS foi confirmada como sendo elevada em couro cabeludo por mRNA, concentração enzimática, e também o seu produto enzimático, PGD2. Os níveis de PGD2 atingiram um pico sete vezes superior aos níveis de base que antecedem a catagénese relacionando, assim, o pico de PDG2 com o início da miniaturização dos folículos capilares. O PTGDS foi expresso na bainha exterior da raiz e ao nível do bulbo folicular (171). De facto, Garza et al. provaram que ratos com níveis elevados de PGD2 na pele desenvolveram alopecia, hiperplasia das glândulas sebáceas, cabelo miniaturizado e que os folículos capilares entraram em catagénese prematuramente, sinais consistentes com AA nos humanos. Além disso, a aplicação tópica de PGD2 em ratos também inibiu o crescimento do pelo nessa área. O PGD2 liga-se a dois recetores principais DP-1 e GPR44 (ou DP-2), ambos localizados na bainha exterior da raiz dos folículos capilares (172). Ainda se comprovou também, que o PGD2 só era capaz de inibir o crescimento do cabelo quando ligado ao GPR44, e não quando ligado ao DP-1 (**Figura 6**).

Em contraste, o efeito das prostaglandinas PGF2 α e PGE2 foi identificado e relatado como algo antagónico à PGD2. Estas são capazes de induzir a anagénese, e aumentar o comprimento do cabelo ao alongar a fase anagénica, respetivamente (173). A PGF2 α e PGE2 apresentam também efeitos vasodilatadores. Desta forma, na derme, são capazes de induzir o fluxo sanguíneo nos vasos perifoliculares. Adicionalmente, o PGF2 α induz a replicação do ADN e estimula a divisão e crescimento celular in vitro (174). Os análogos de PGF2 α também estimulam recetores de superfície celular ligados à fosforilase C, desencadeando a ativação da proteína quinase C (PKC). As PKC desempenham um papel fundamental no crescimento celular (175), mas a sinalização dependente de PKC não é inteiramente responsável pela atividade mitogénica da PGF2 α (176). Foi encontrada uma sobre expressão de PKC entre a fase intermédia e a fase final da anagénese, suportando a hipótese de que PKC pode desempenhar um papel importante no crescimento dos folículos pilosos (177). Neste estudo, os folículos capilares tratados com PGF2 α e os seus análogos mostraram bulbos foliculares de maior tamanho do que o grupo controlo, sugerindo que esta apresenta poder de indução na divisão celular dos queratinócitos foliculares. Assim, o PGF2 α pode atuar como um estimulador dos folículos capilares na fase anagénica através de estes dois efeitos (**Figura 6**).

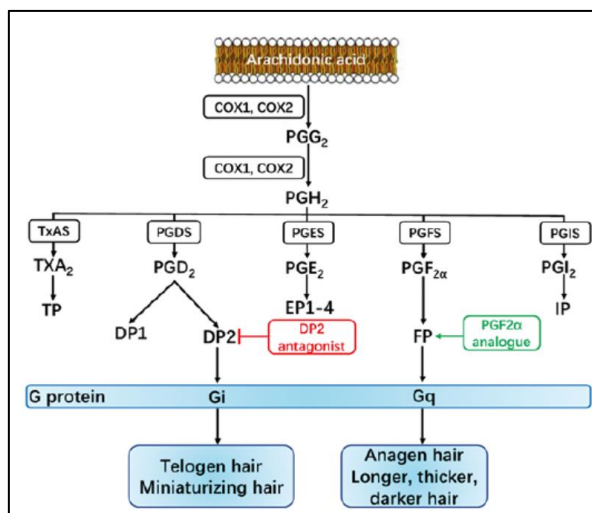


Figura 9 - Esquema da biossíntese dos prostanoídeos e dos seus efeitos biológicos nos folículos capilares através da ativação de diferentes recetores de superfície celular acoplados à proteína G. Adaptado de Xu et al (178).

Utilização de análogos das prostaglandinas na Alopecia Androgénica

O potencial papel das prostaglandinas no tratamento da alopecia foi inicialmente assinalado na observação do aumento do crescimento, em menos tempo, das pestanas e sobrancelhas como efeito secundário após a aplicação tópica de análogos de prostaglandinas no tratamento do glaucoma. Latanoprost foi documentado pela primeira vez como um estimulante do crescimento do pelo por Johnstone em 1997 (179). Neste estudo com 43 pacientes, foram observados, no olho tratado com Latanoprost, um aumento do número de pelos, comprimento, espessura e pigmentação. O Latanoprost e o Bimatoprost, análogos da PGF_{2α} e prostamida F_{2α}, são amplamente utilizados no tratamento do glaucoma de ângulo aberto e hipertensão ocular como solução oftálmica devido à sua eficácia e efeitos adversos sistémicos mínimos.

Desta forma, foi realizado um estudo em homens diagnosticados com alopecia androgénica em fase inicial com o objetivo de avaliar a eficácia do Latanoprost 0,1% no crescimento e pigmentação do cabelo, investigar o efeito na pigmentação do couro cabeludo, a duração necessária do tratamento, e a sua segurança. Os sujeitos receberam os produtos, Latanoprost 0,1% e placebo, com a dose de uma gota (~50μL) diariamente durante 24 semanas em duas localizações simétricas no couro cabeludo de acordo com a aleatoriedade. As diferenças a favor do Latanoprost podem ser observadas na avaliação clínica a partir das 12 semanas de tratamento, e em 50% da população do estudo às 24 semanas. As diferenças diziam respeito à densidade do cabelo, associada a um aumento da pigmentação e da espessura do cabelo. Os locais de investigação diferiram na densidade do cabelo a partir das 8 semanas em diante. Com 24 semanas, no local tratado com

Latanoprost observou-se um aumento da densidade significativa em comparação com a linha de base e placebo. A relação anagénio/telogénio pode indicar que a Latanoprost não altera o comprimento das fases anagénica e telogénica dos folículos capilares. No entanto, como o número absoluto de cabelos tanto em anagéne como de telóge ne se aumentou, supõe-se que a Latanoprost induz a proliferação capilar. Porém, este estudo apresentava limitações: apenas foram incluídos homens relativamente jovens com alopecia androgénica em fase inicial. Foram observados alguns efeitos adversos com principal relevo para o eritema no local tratado com Latanoprost indicando que a concentração selecionada está próxima da dose máxima recomendável. Apesar disto, os indivíduos com eritema responderam bem ao tratamento com Latanoprost (180).

De forma a comparar os efeitos do uso tópico de Latanoprost e Minoxidil, em homens e mulheres diagnosticadas com alopecia androgenética em fase inicial, foi realizado um estudo com 6 grupos: controlo negativo; Minoxidil 5%; Latanoprost 0,005% + Minoxidil 5%; Latanoprost 0,005%; Minoxidil 5% + Latanoprost 0,010%; Latanoprost 0,010%. As contagens totais de fios de cabelo foram avaliadas utilizando um fototricograma. Observando os resultados obtidos, o Minoxidil 5% proporcionou um aumento significativo no total de fios de cabelo e no total de cabelos em anagéne, a partir dos primeiros 90 dias de aplicação. O Latanoprost 0,005% apresentou resultados um pouco inferiores aos do Minoxidil 5%, no aumento do número total de cabelo e nos cabelos em anagéne, após 180 dias. Por outro lado, a Latanoprost a 0,010% não gerou melhoria estatisticamente significativa, tendo resultados comparáveis aos do placebo (181).

Antes de se proceder à avaliação do efeito do Bimatoprost no tratamento de pacientes com alopecia androgenética, foi realizado um estudo *ex vivo* utilizando pele humana do couro cabeludo de áreas não calvas (182). Este estudo tinha como objetivo investigar o possível efeito do Bimatoprost no crescimento do folículo piloso do couro cabeludo na ausência de sangue. Assim, o folículo capilar isolado foi cultivado em cultura de órgãos durante 9 dias em meio sem soro. Havia 5 grupos, 3 dos quais receberam Bimatoprost com diferentes concentrações: 10, 100, e 1000 nM. Os outros grupos eram o controlo negativo e o AGN 211336, um antagonista dos recetores da prostamida F2 α . As três concentrações de Bimatoprost estimularam os folículos capilares a crescerem mais rápido, nos diferentes grupos: 10 nM promoveu o crescimento significativamente em 15%, enquanto 100 e 1000 nM apresentou um efeito maior que 25%. Adicionalmente, prolongaram a anagéne no 9º dia por 7% com 10 nM e 10% com 100 e 1000 nM. O

Bimatoprost também estimulou a quantidade total de cabelo sintetizado na cultura de órgãos, aumentando 20% com 10 nM, 35% com 100 nM e 33% com 1000 nM. O Bimatoprost estimulou o crescimento isolado do folículo cabeludo em cultura de órgãos onde não há possibilidade de envolver substâncias circulantes no sangue nem interações com outros tecidos cutâneos. Isto significa que os efeitos observados são derivados da ação do Bimatoprost em recetores específicos nas células do folículo capilar. A saturação do efeito em concentrações relevantes para os recetores e a capacidade do potente antagonista da prostamida, AGN 211336, de bloquear os efeitos estimuladores do Bimatoprost em ambos os parâmetros de crescimento do cabelo neste estudo indicam também uma resposta mediada por recetores. Tanto o $\text{PGF}_2\alpha$ como a prostamida $\text{F}_2\alpha$ ligam-se a recetores transmembrana acoplados à proteína G, que ativam a sinalização intracelular, resultando num aumento dos níveis intracelulares de Ca^{2+} (183). Possivelmente, isto altera a expressão genética dos fatores parácrinos produzidos pela papila dérmica, que influenciam a atividade dos queratinócitos e melanócitos do bulbo folicular. Este facto é paralelo ao mecanismo de ação androgénica nos folículos pilosos e pode incluir o aumento da produção de fator de células estaminais (SCF), um fator estimulante do pigmento reduzido na alopecia androgenética (184) e/ou a redução do de $\text{TGF-}\beta$, fator inibidor associado à perda de cabelo (185). Os resultados deste estudo suscitaram interesse sobre a utilização do Bimatoprost em alopecia androgenética em face inicial. Por conseguinte, procedeu-se à realização de um ensaio clínico sobre o efeito de Bimatoprost (2 formulações tópicas de concentração confidencial) durante 28 dias (186). Comparativamente ao grupo placebo, nos 2 grupos submetidos às formulações de Bimatoprost observou-se uma melhoria no número de cabelo por cm^2 , e espessura do cabelo. Por outro lado, foi visível uma diminuição no escurecimento dos cabelos, não indo de encontro ao observado nos estudos realizados em pestanas e sobrancelhas.

Em contrapartida, foi realizado um estudo utilizando uma formulação oral dum antagonista dos recetores DP-2, Setipiprant, com resultados sem significância clínica. Apesar dos resultados promissores obtidos anteriormente pelos investigadores, este ensaio clínico de fase 2, em pacientes com alopecia androgenética, não demonstrou eficácia diferente do placebo (187).

Conclusão

Há um esboço emergente com vista à definição da função das prostaglandinas como moduladores do cabelo. Há ainda muito que permanece em aberto desde logo compreender totalmente os processos e vias que associam as prostaglandinas ao ciclo capilar. Adicionalmente, são necessários tratamentos eficazes para a queda de cabelo, uma vez que a alopecia androgenética é uma patologia bastante comum e o arsenal terapêutico é reduzido. Existem apenas dois tratamentos aprovados para a alopecia androgenética em homens, minoxidil e finasterida. Desta forma, os análogos das prostaglandinas (análogos PGE2 e PGF2 α) poderão ter um impacto significativo na modulação do crescimento do cabelo.

Conclusão Geral

Como unidade curricular o Estágio pretende integrar o estudante no seio das instituições de saúde e dos profissionais de saúde e que adquira autonomia na compreensão, assimilação e solução de questões técnicas e científicas no desenvolvimento de atividades farmacêuticas.

Na Farmácia Aliança tive a oportunidade de observar a posição central em que o farmacêutico se apresenta na comunidade a nível da promoção de saúde e bem-estar. Sob o protocolo estabelecido com o grupo DomusVi tive a oportunidade de interagir ativamente com profissionais de saúde de diversas áreas. A sinergia entre os diferentes profissionais de saúde em prol do bem dos residentes da unidade Júlio Dinis demonstrou a importância da integração dos cuidados de saúde, em Portugal.

A especialização em Naturopatia por parte das farmacêuticas, expandiu o meu conhecimento sobre o arsenal terapêutico disponível na profilaxia e tratamento de diversas patologias de grande relevo no panorama atual.

O desenvolvimento dos projetos enalteceu a necessidade de investigação e clarificação dos diferentes mecanismos envolvidos nas diversas patologias abordadas. Por exemplo, a separação da farmacologia e farmacognosia desperta problemas a nível da identificação dos diferentes isómeros na silimarina e o respetivo efeito farmacológico. Adicionalmente, a prevenção de DCV pode ser mitigada por administração de *polypills* atuando em vários fatores de risco, mas por outro lado o fator socioeconómico ainda tem um peso substancial na adesão à terapêutica. O equilíbrio desta balança apresenta-se como um futuro objetivo de relevo na prevenção de DCV. No caso do arsenal terapêutico relativo à alopecia androgenética, a falta de opções enaltece a necessidade de investigação e apuração de fármacos existentes com atividade pertinentes na patologia, ou na conceção de novos fármacos.

O culminar de cinco anos de intensos desafios não se traduzem no relatório de estágio. Porém, o desafio proposto por este enalteceu o entusiasmo que o Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas despertou em mim há mais de 5 anos. O esboço farmacêutico da minha vida começou em 2017 e, agora, no final desta jornada acredito veemente que estou preparado para o desígnio farmacêutico.

Referências Bibliográficas

1. Sabaté E. Adherence to Long-Term Therapies: Evidence for Action: Geneva: World Health Organization; 2003 [Available from: apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42682/9241545992.pdf;jsessionid=497D2B56AEAE555DA769EC4FD6FADD79?sequence=1].
2. Horne R, Weinman J. Patients' beliefs about prescribed medicines and their role in adherence to treatment in chronic physical illness. *J Psychosom Res.* 1999;47(6):555-67.
3. Normas conjuntas FIP/OMS para as boas práticas de farmácia: Ordem dos Farmacêuticos; 2010 [Available from: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/normas_conjuntas_fip_oms_para_a_s_boas_praticas_de_farmacia_19995420765ab1481e553c0.pdf].
4. Norma geral nº30-NGE-00-010-02, de 9 de outubro de 2018. Preparação Individualizada da Medicação (PIM). : Ordem dos Farmacêuticos; 2018 [Available from: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/qualidade/norma_pim_vfinal_30_nge_00_010_02_1834827175bf58d479434f.pdf~].
5. PCNE statement on medication review 2013: PCNE (Pharmaceutical Care Network Europe); 2013 [Available from: https://www.pcne.org/upload/files/150_20160504_PCNE_MedRevtypes.pdf].
6. Projeções de População Residente 2018-2080: Instituto Nacional de Estatística; 2020 [Available from: https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0010035&contexto=bd&selTab=tab2].
7. Lei n.º 45/2003 dda. Diário da República n.º 193/2003, Série I-A de 2003-08-22. Assembleia da República. Lisboa.
8. Hahnemann S. Organon da Arte de Curar. 6 ed: Robe. São Paulo; 1996.
9. VANNIER LP, J. Compendio de materia medica Homeopatica. 6 ed. Porrua M, editor1977.
10. Pérez-Sánchez A, Barrajón-Catalán E, Herranz-López M, Micol V. Nutraceuticals for Skin Care: A Comprehensive Review of Human Clinical Studies. *Nutrients.* 2018;10(4):403.
11. Choi YJ, Moon KM, Chung KW, Jeong JW, Park D, Kim DH, et al. The underlying mechanism of proinflammatory NF- κ B activation by the mTORC2/Akt/IKK α pathway during skin aging. *Oncotarget.* 2016;7(33):52685-94.
12. Bouilly-Gauthier D, Jeannes C, Maubert Y, Duteil L, Queille-Roussel C, Piccardi N, et al. Clinical evidence of benefits of a dietary supplement containing probiotic and carotenoids on ultraviolet-induced skin damage. *British Journal of Dermatology.* 2010;163(3):536-43.
13. Di Nuzzo S, Sylva-Steenland RM, de Rie MA, Das PK, Bos JD, Teunissen MB. UVB radiation preferentially induces recruitment of memory CD4⁺ T cells in normal human skin: long-term effect after a single exposure. *J Invest Dermatol.* 1998;110(6):978-81.
14. Greul AK, Grundmann JU, Heinrich F, Pfitzner I, Bernhardt J, Ambach A, et al. Photoprotection of UV-irradiated human skin: an antioxidative combination of vitamins E and C, carotenoids, selenium and proanthocyanidins. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.* 2002;15(5):307-15.
15. Mizuhashi S, Fukushima S, Ishibashi T, Kuriyama H, Kimura T, Kanemaru H, et al. Nucleosome assembly protein 1-like 4, a new therapeutic target for proliferation and invasion of melanoma cells. *J Dermatol Sci.* 2021;102(1):16-24.

16. Boelsma E, Hendriks HF, Roza L. Nutritional skin care: health effects of micronutrients and fatty acids. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2001;73(5):853-64.
17. Vollmer DL, West VA, Lephart ED. Enhancing Skin Health: By Oral Administration of Natural Compounds and Minerals with Implications to the Dermal Microbiome. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(10):3059.
18. Shao Y, He T, Fisher GJ, Voorhees JJ, Quan T. Molecular basis of retinol anti-ageing properties in naturally aged human skin in vivo. *Int J Cosmet Sci*. 2017;39(1):56-65.
19. Roche FC, Harris-Tryon TA. Illuminating the Role of Vitamin A in Skin Innate Immunity and the Skin Microbiome: A Narrative Review. *Nutrients*. 2021;13(2).
20. Savini I, Catani MV, Rossi A, Duranti G, Melino G, Avigliano L. Characterization of keratinocyte differentiation induced by ascorbic acid: protein kinase C involvement and vitamin C homeostasis. *J Invest Dermatol*. 2002;118(2):372-9.
21. Davidson JM, LuValle PA, Zoia O, Quaglino D, Jr., Giro M. Ascorbate differentially regulates elastin and collagen biosynthesis in vascular smooth muscle cells and skin fibroblasts by pretranslational mechanisms. *J Biol Chem*. 1997;272(1):345-52.
22. Ponc M, Weerheim A, Kempenaar J, Mulder A, Gooris GS, Bouwstra J, et al. The formation of competent barrier lipids in reconstructed human epidermis requires the presence of vitamin C. *J Invest Dermatol*. 1997;109(3):348-55.
23. Tebbe B, Wu S, Geilen CC, Eberle J, Kodelja V, Orfanos CE. L-ascorbic acid inhibits UVA-induced lipid peroxidation and secretion of IL-1 α and IL-6 in cultured human keratinocytes in vitro. *J Invest Dermatol*. 1997;108(3):302-6.
24. Lee GY, Han SN. The Role of Vitamin E in Immunity. *Nutrients*. 2018;10(11):1614.
25. Ichihashi M, Funasaka Y, Ohashi A, Chacrabarty A, Ahmed NU, Ueda M, et al. The inhibitory effect of DL- α -tocopheryl ferulate in lecithin on melanogenesis. *Anticancer Res*. 1999;19(5a):3769-74.
26. Keen MA, Hassan I. Vitamin E in dermatology. *Indian Dermatol Online J*. 2016;7(4):311-5.
27. Zhu X, Jiang M, Song E, Jiang X, Song Y. Selenium deficiency sensitizes the skin for UVB-induced oxidative damage and inflammation which involved the activation of p38 MAPK signaling. *Food and Chemical Toxicology*. 2015;75:139-45.
28. Cai Z, Zhang J, Li H. Selenium, aging and aging-related diseases. *Aging Clinical and Experimental Research*. 2019;31(8):1035-47.
29. Mrinal G, Vikram KM, Karaninder SM, Pushpinder SC. Zinc Therapy in Dermatology: A Review. *Dermatology Research and Practice*. 2014.
30. Inoue Y, Hasegawa S, Ban S, Yamada T, Date Y, Mizutani H, et al. ZIP2 protein, a zinc transporter, is associated with keratinocyte differentiation. *J Biol Chem*. 2014;289(31):21451-62.
31. Lansdown ABG. Metallothioneins: potential therapeutic aids for wound healing in the skin. *Wound Repair and Regeneration*. 2002;10(3):130-2.
32. Steiling H, Munz B, Werner S, Brauchle M. Different types of ROS-scavenging enzymes are expressed during cutaneous wound repair. *Exp Cell Res*. 1999;247(2):484-94.
33. Philips N, Hwang H, Chauhan S, Leonardi D, Gonzalez S. Stimulation of Cell Proliferation and Expression of Matrixmetalloproteinase-1 and Interleukin-8 Genes in Dermal Fibroblasts by Copper. *Connective Tissue Research*. 2010;51(3):224-9.
34. Borkow G. Using Copper to Improve the Well-Being of the Skin. *Current Chemical Biology*. 2014;8(2):89-102.

35. Fiedor J, Burda K. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients*. 2014;6(2):466-88.
36. Lands WE. Biochemistry and physiology of n-3 fatty acids. *Faseb j*. 1992;6(8):2530-6.
37. Zhang YP, Chu RX, Liu H. Vitamin A intake and risk of melanoma: a meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9(7):e102527.
38. Noel SE, Stoneham AC, Olsen CM, Rhodes LE, Green AC. Consumption of omega-3 fatty acids and the risk of skin cancers: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer*. 2014;135(1):149-56.
39. Cardiovascular diseases (CVDs) [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)2021](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)2021) [
40. DeMaria AN, Ben-Yehuda O, Bax JJ, Feld GK, Greenberg BH, Lew WYW, et al. Highlights of the Year in <i>JACC</i> 2008. *Journal of the American College of Cardiology*. 2009;53(4):373-98.
41. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004;364(9438):937-52.
42. Mendis S, Puska P, Norrving B, World Health O, World Heart F, World Stroke O. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control / edited by: Shanthi Mendis ... [et al.]. Geneva: World Health Organization; 2011.
43. Bansilal S, Castellano JM, Garrido E, Wei HG, Freeman A, Spettell C, et al. Assessing the Impact of Medication Adherence on Long-Term Cardiovascular Outcomes. *J Am Coll Cardiol*. 2016;68(8):789-801.
44. Wald NJ, Law MR. A strategy to reduce cardiovascular disease by more than 80%. *Bmj*. 2003;326(7404):1419.
45. Sever PS, Poulter NR, Dahlof B, Wedel H, Beevers G, Caulfield M, et al. The Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial lipid lowering arm: extended observations 2 years after trial closure. *Eur Heart J*. 2008;29(4):499-508.
46. Kannel WB, Dawber TR, Kagan A, Revotskie N, Stokes J, 3rd. Factors of risk in the development of coronary heart disease--six year follow-up experience. The Framingham Study. *Ann Intern Med*. 1961;55:33-50.
47. O'Donnell MJ, Chin SL, Rangarajan S, Xavier D, Liu L, Zhang H, et al. Global and regional effects of potentially modifiable risk factors associated with acute stroke in 32 countries (INTERSTROKE): a case-control study. *The Lancet*. 2016;388(10046):761-75.
48. Teo KK, Rafiq T. Cardiovascular Risk Factors and Prevention: A Perspective From Developing Countries. *Canadian Journal of Cardiology*. 2021;37(5):733-43.
49. Neaton JD, Wentworth D. Serum cholesterol, blood pressure, cigarette smoking, and death from coronary heart disease. Overall findings and differences by age for 316,099 white men. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. *Arch Intern Med*. 1992;152(1):56-64.
50. Sposito AC. Emerging insights into hypertension and dyslipidaemia synergies. *European Heart Journal Supplements*. 2004;6(suppl_G):G8-G12.
51. Kurtel H, Rodrigues SF, Yilmaz CE, Yildirim A, Granger DN. Impaired vasomotor function induced by the combination of hypertension and hypercholesterolemia. *J Am Soc Hypertens*. 2013;7(1):14-23.
52. Zhou Q, Jimi S, Smith TL, Kummerow FA. The effect of cholesterol on the accumulation of intracellular calcium. *Biochim Biophys Acta*. 1991;1085(1):1-6.
53. Wald NJ, Wald DS. The polypill concept. *Heart*. 2010;96(1):1-4.
54. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force

for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension. *J Hypertens.* 2018;36(10):1953-2041.

55. Probstfield JL, O'Brien KD. Progression of cardiovascular damage: the role of renin-angiotensin system blockade. *Am J Cardiol.* 2010;105(1 Suppl):10a-20a.

56. Borghi C, Morbini M, Cicero AF. Combination therapy in the extended cardiovascular continuum: a focus on perindopril and amlodipine. *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* 2015;16(5):390-9.

57. Makani H, Bangalore S, Romero J, Wever-Pinzon O, Messerli FH. Effect of renin-angiotensin system blockade on calcium channel blocker-associated peripheral edema. *Am J Med.* 2011;124(2):128-35.

58. Williams B, Lacy PS, Thom SM, Cruickshank K, Stanton A, Collier D, et al. Differential impact of blood pressure-lowering drugs on central aortic pressure and clinical outcomes: principal results of the Conduit Artery Function Evaluation (CAFE) study. *Circulation.* 2006;113(9):1213-25.

59. Vlachopoulos C, O'Rourke M, & Nichols, W.W. McDonald's Blood Flow in Arteries: Theoretical, Experimental and Clinical Principles. 6th ed: CRC Press; 2011.

60. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, O'Rourke MF, Safar ME, Baou K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with central haemodynamics: a systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J.* 2010;31(15):1865-71.

61. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J.* 2016;37(29):2315-81.

62. Law MR, Wald NJ, Rudnicka AR. Quantifying effect of statins on low density lipoprotein cholesterol, ischaemic heart disease, and stroke: systematic review and meta-analysis. *Bmj.* 2003;326(7404):1423.

63. Mihaylova B, Emberson J, Blackwell L, Keech A, Simes J, Barnes EH, et al. The effects of lowering LDL cholesterol with statin therapy in people at low risk of vascular disease: meta-analysis of individual data from 27 randomised trials. *Lancet.* 2012;380(9841):581-90.

64. Sever P, Dahlöf B, Poulter N, Wedel H, Beevers G, Caulfield M, et al. Potential synergy between lipid-lowering and blood-pressure-lowering in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial. *Eur Heart J.* 2006;27(24):2982-8.

65. Sever PS, Poulter NR, Dahlöf B, Wedel H. Antihypertensive therapy and the benefits of atorvastatin in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial: lipid-lowering arm extension. *J Hypertens.* 2009;27(5):947-54.

66. Simon A, Dézsi CA. Treatment of Hypertensive and Hypercholesterolaemic Patients with the Triple Fixed Combination of Atorvastatin, Perindopril and Amlodipine: The Results of the CORAL Study. *Advances in Therapy.* 2019;36(8):2010-20.

67. Baroletti S, Dell'Orfano H. Medication adherence in cardiovascular disease. *Circulation.* 2010;121(12):1455-8.

68. Claxton AJ, Cramer J, Pierce C. A systematic review of the associations between dose regimens and medication compliance. *Clin Ther.* 2001;23(8):1296-310.

69. Gerbino PP, Shoheiber O. Adherence patterns among patients treated with fixed-dose combination versus separate antihypertensive agents. *Am J Health Syst Pharm.* 2007;64(12):1279-83.
70. Chapman RH, Benner JS, Petrilla AA, Tierce JC, Collins SR, Battleman DS, et al. Predictors of adherence with antihypertensive and lipid-lowering therapy. *Arch Intern Med.* 2005;165(10):1147-52.
71. Selak V, Elley CR, Bullen C, Crengle S, Wadham A, Rafter N, et al. Effect of fixed dose combination treatment on adherence and risk factor control among patients at high risk of cardiovascular disease: randomised controlled trial in primary care. *Bmj.* 2014;348:g3318.
72. Thom S, Poulter N, Field J, Patel A, Prabhakaran D, Stanton A, et al. Effects of a fixed-dose combination strategy on adherence and risk factors in patients with or at high risk of CVD: the UMPIRE randomized clinical trial. *Jama.* 2013;310(9):918-29.
73. Patel A, Cass A, Peiris D, Usherwood T, Brown A, Jan S, et al. A pragmatic randomized trial of a polypill-based strategy to improve use of indicated preventive treatments in people at high cardiovascular disease risk. *Eur J Prev Cardiol.* 2015;22(7):920-30.
74. Castellano JM, Sanz G, Peñalvo JL, Bansilal S, Fernández-Ortiz A, Alvarez L, et al. A polypill strategy to improve adherence: results from the FOCUS project. *J Am Coll Cardiol.* 2014;64(20):2071-82.
75. Huffman MD. The Polypill: From Promise to Pragmatism. *PLoS Med.* 2015;12(8):e1001862.
76. Wang X, Zhang Z, Wu SC. Health Benefits of *Silybum marianum*: Phytochemistry, Pharmacology, and Applications. *J Agric Food Chem.* 2020;68(42):11644-64.
77. Paik JM, Golabi P, Younossi Y, Mishra A, Younossi ZM. Changes in the Global Burden of Chronic Liver Diseases From 2012 to 2017: The Growing Impact of NAFLD. *Hepatology.* 2020;72(5):1605-16.
78. Chambers CS, Holečková V, Petrásková L, Biedermann D, Valentová K, Buchta M, et al. The silymarin composition... and why does it matter??? *Food Research International.* 2017;100:339-53.
79. Althagafy HS, Meza-Aviña ME, Oberlies NH, Croatt MP. Mechanistic study of the biomimetic synthesis of flavonolignan diastereoisomers in milk thistle. *J Org Chem.* 2013;78(15):7594-600.
80. Merlini L, Zanarotti A, Pelter A, Rochefort MP, Hänsel R. Biomimetic synthesis of natural silybin. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications.* 1979(16):695-.
81. Petrásková L, Káňová K, Biedermann D, Křen V, Valentová K. Simple and Rapid HPLC Separation and Quantification of Flavonoid, Flavonolignans, and 2,3-Dehydroflavonolignans in Silymarin. *Foods.* 2020;9(2).
82. Wen Z, Dumas TE, Schrieber SJ, Hawke RL, Fried MW, Smith PC. Pharmacokinetics and metabolic profile of free, conjugated, and total silymarin flavonolignans in human plasma after oral administration of milk thistle extract. *Drug Metab Dispos.* 2008;36(1):65-72.
83. Poppe L, Petersen M. Variation in the flavonolignan composition of fruits from different *Silybum marianum* chemotypes and suspension cultures derived therefrom. *Phytochemistry.* 2016;131:68-75.
84. Luan LB, Zhao N. [The absorption characteristics of silybin in small intestine of rat]. *Yao Xue Xue Bao.* 2006;41(2):138-41.

85. Wu JW, Lin LC, Hung SC, Chi CW, Tsai TH. Analysis of silibinin in rat plasma and bile for hepatobiliary excretion and oral bioavailability application. *J Pharm Biomed Anal.* 2007;45(4):635-41.
86. Hung CF, Lin YK, Zhang LW, Chang CH, Fang JY. Topical delivery of silymarin constituents via the skin route. *Acta Pharmacol Sin.* 2010;31(1):118-26.
87. Tan ZR, Zhou YX, Liu J, Huang WH, Chen Y, Wang YC, et al. The influence of ABCB1 polymorphism C3435T on the pharmacokinetics of silibinin. *J Clin Pharm Ther.* 2015;40(6):685-8.
88. Xu P, Zhou H, Li YZ, Yuan ZW, Liu CX, Liu L, et al. Baicalein Enhances the Oral Bioavailability and Hepatoprotective Effects of Silybin Through the Inhibition of Efflux Transporters BCRP and MRP2. *Front Pharmacol.* 2018;9:1115.
89. Weyhenmeyer R, Mascher H, Birkmayer J. Study on dose-linearity of the pharmacokinetics of silibinin diastereomers using a new stereospecific assay. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol.* 1992;30(4):134-8.
90. Tvrđý V, Pourová J, Jirkovský E, Křen V, Valentová K, Mladěnka P. Systematic review of pharmacokinetics and potential pharmacokinetic interactions of flavonolignans from silymarin. *Med Res Rev.* 2021;41(4):2195-246.
91. Skottová N, Z SV, Vecera R, Urbánek K, Jegorov A, Simánek V. Pharmacokinetic study of iodine-labeled silibinins in rat. *Pharmacol Res.* 2001;44(3):247-53.
92. Vrba J, Papoušková B, Roubalová L, Zatloukalová M, Biedermann D, Křen V, et al. Metabolism of flavonolignans in human hepatocytes. *J Pharm Biomed Anal.* 2018;152:94-101.
93. Calani L, Brighenti F, Bruni R, Del Rio D. Absorption and metabolism of milk thistle flavanolignans in humans. *Phytomedicine.* 2012;20(1):40-6.
94. Flory PJ, Krug G, Lorenz D, Mennicke WH. [Studies on elimination of silymarin in cholecystectomized patients. I. Biliary and renal elimination after a single oral dose]. *Planta Med.* 1980;38(3):227-37.
95. Schandalik R, Gatti G, Perucca E. Pharmacokinetics of silybin in bile following administration of silipide and silymarin in cholecystectomy patients. *Arzneimittelforschung.* 1992;42(7):964-8.
96. Marhol P, Bednář P, Kolářová P, Večeřa R, Ulrichová J, Tesařová E, et al. Pharmacokinetics of pure silybin diastereoisomers and identification of their metabolites in rat plasma. *Journal of Functional Foods.* 2015;14:570-80.
97. Teschke R. Alcoholic Liver Disease: Alcohol Metabolism, Cascade of Molecular Mechanisms, Cellular Targets, and Clinical Aspects. *Biomedicines.* 2018;6(4).
98. Pellicoro A, Ramachandran P, Iredale JP, Fallowfield JA. Liver fibrosis and repair: immune regulation of wound healing in a solid organ. *Nature Reviews Immunology.* 2014;14(3):181-94.
99. Kwon DY, Jung YS, Kim SJ, Kim YS, Choi DW, Kim YC. Alterations in sulfur amino acid metabolism in mice treated with silymarin: a novel mechanism of its action involved in enhancement of the antioxidant defense in liver. *Planta Med.* 2013;79(12):997-1002.
100. Li CC, Hsiang CY, Wu SL, Ho TY. Identification of novel mechanisms of silymarin on the carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice by nuclear factor- κ B bioluminescent imaging-guided transcriptomic analysis. *Food Chem Toxicol.* 2012;50(5):1568-75.
101. Gharagozloo M, Velardi E, Bruscoli S, Agostini M, Di Sante M, Donato V, et al. Silymarin suppress CD4⁺ T cell activation and proliferation: effects on NF-kappaB activity and IL-2 production. *Pharmacol Res.* 2010;61(5):405-9.

102. Salomone F, Barbagallo I, Godos J, Lembo V, Currenti W, Cinà D, et al. Silibinin Restores NAD⁺ Levels and Induces the SIRT1/AMPK Pathway in Non-Alcoholic Fatty Liver. *Nutrients*. 2017;9(10).
103. Cui CX, Deng JN, Yan L, Liu YY, Fan JY, Mu HN, et al. Silibinin Capsules improves high fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease in hamsters through modifying hepatic de novo lipogenesis and fatty acid oxidation. *J Ethnopharmacol*. 2017;208:24-35.
104. Podder B, Kim Y-S, Zerlin T, Song H-Y. Antioxidant effect of silymarin on paraquat-induced human lung adenocarcinoma A549 cell line. *Food and Chemical Toxicology*. 2012;50(9):3206-14.
105. Gobejishvili L, Barve S, Joshi-Barve S, Uriarte S, Song Z, McClain C. Chronic ethanol-mediated decrease in cAMP primes macrophages to enhanced LPS-inducible NF-kappaB activity and TNF expression: relevance to alcoholic liver disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006;291(4):G681-8.
106. Chen Z, Yu R, Xiong Y, Du F, Zhu S. A vicious circle between insulin resistance and inflammation in nonalcoholic fatty liver disease. *Lipids Health Dis*. 2017;16(1):203.
107. Guan YS, He Q, Wang MQ, Li P. Nuclear factor kappa B and hepatitis viruses. *Expert Opin Ther Targets*. 2008;12(3):265-80.
108. Robinson SM, Mann DA. Role of nuclear factor kappaB in liver health and disease. *Clin Sci (Lond)*. 2010;118(12):691-705.
109. Manna SK, Mukhopadhyay A, Van NT, Aggarwal BB. Silymarin suppresses TNF-induced activation of NF-kappa B, c-Jun N-terminal kinase, and apoptosis. *J Immunol*. 1999;163(12):6800-9.
110. He Q, Kim J, Sharma RP. Silymarin Protects Against Liver Damage in BALB/c Mice Exposed to Fumonisin B1 Despite Increasing Accumulation of Free Sphingoid Bases. *Toxicological Sciences*. 2004;80(2):335-42.
111. Schümann J, Prockl J, Kiemer AK, Vollmar AM, Bang R, Tiegs G. Silibinin protects mice from T cell-dependent liver injury. *J Hepatol*. 2003;39(3):333-40.
112. Dehmlow C, Erhard J, de Groot H. Inhibition of Kupffer cell functions as an explanation for the hepatoprotective properties of silibinin. *Hepatology*. 1996;23(4):749-54.
113. Kang JS, Park SK, Yang KH, Kim HM. Silymarin inhibits TNF-alpha-induced expression of adhesion molecules in human umbilical vein endothelial cells. *FEBS Lett*. 2003;550(1-3):89-93.
114. Zhang Y, Hai J, Cao M, Zhang Y, Pei S, Wang J, et al. Silibinin ameliorates steatosis and insulin resistance during non-alcoholic fatty liver disease development partly through targeting IRS-1/PI3K/Akt pathway. *International Immunopharmacology*. 2013;17(3):714-20.
115. Gu M, Zhao P, Huang J, Zhao Y, Wang Y, Li Y, et al. Silymarin Ameliorates Metabolic Dysfunction Associated with Diet-Induced Obesity via Activation of Farnesyl X Receptor. *Front Pharmacol*. 2016;7:345.
116. Salamone F, Galvano F, Marino A, Paternostro C, Tibullo D, Bucchieri F, et al. Silibinin improves hepatic and myocardial injury in mice with nonalcoholic steatohepatitis. *Digestive and Liver Disease*. 2012;44(4):334-42.
117. Trappoliere M, Caligiuri A, Schmid M, Bertolani C, Failli P, Vizzutti F, et al. Silybin, a component of silymarin, exerts anti-inflammatory and anti-fibrogenic effects on human hepatic stellate cells. *J Hepatol*. 2009;50(6):1102-11.
118. Lieber CS, Leo MA, Cao Q, Ren C, DeCarli LM. Silymarin retards the progression of alcohol-induced hepatic fibrosis in baboons. *J Clin Gastroenterol*. 2003;37(4):336-9.

119. Luangchosiri C, Thakkestian A, Chitphuk S, Stitchantrakul W, Petraksa S, Sobhonslidsuk A. A double-blinded randomized controlled trial of silymarin for the prevention of antituberculosis drug-induced liver injury. *BMC Complement Altern Med*. 2015;15:334.
120. Wong VW, Wong GL, Tsang SW, Hui AY, Chan AW, Choi PC, et al. Metabolic and histological features of non-alcoholic fatty liver disease patients with different serum alanine aminotransferase levels. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009;29(4):387-96.
121. Wah Kheong C, Nik Mustapha NR, Mahadeva S. A Randomized Trial of Silymarin for the Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2017;15(12):1940-9.e8.
122. Ferenci P, Scherzer TM, Kerschner H, Rutter K, Beinhardt S, Hofer H, et al. Silibinin is a potent antiviral agent in patients with chronic hepatitis C not responding to pegylated interferon/ribavirin therapy. *Gastroenterology*. 2008;135(5):1561-7.
123. Rendina M, D'Amato M, Castellaneta A, Castellaneta NM, Brambilla N, Giacobelli G, et al. Antiviral activity and safety profile of silibinin in HCV patients with advanced fibrosis after liver transplantation: a randomized clinical trial. *Transpl Int*. 2014;27(7):696-704.
124. Kelly Y, Blanco A, Tosti A. Androgenetic Alopecia: An Update of Treatment Options. *Drugs*. 2016;76(14):1349-64.
125. Varothai S, Bergfeld WF. Androgenetic alopecia: an evidence-based treatment update. *Am J Clin Dermatol*. 2014;15(3):217-30.
126. Alves R. Androgenetic Alopecia: a Review and Emerging Treatments. *Journal of Clinical Research in Dermatology*. 2017;4(4):1-13.
127. Lolli F, Pallotti F, Rossi A, Fortuna MC, Caro G, Lenzi A, et al. Androgenetic alopecia: a review. *Endocrine*. 2017;57(1):9-17.
128. Fabbrocini G, Cantelli M, Masarà A, Annunziata MC, Marasca C, Cacciapuoti S. Female pattern hair loss: A clinical, pathophysiologic, and therapeutic review. *Int J Womens Dermatol*. 2018;4(4):203-11.
129. Michelet JF, Commo S, Billoni N, Mahé YF, Bernard BA. Activation of cytoprotective prostaglandin synthase-1 by minoxidil as a possible explanation for its hair growth-stimulating effect. *J Invest Dermatol*. 1997;108(2):205-9.
130. Poblet E, Jimenez F, Escario-Travesedo E, Hardman JA, Hernández-Hernández I, Agudo-Mena JL, et al. Eccrine sweat glands associate with the human hair follicle within a defined compartment of dermal white adipose tissue. *British Journal of Dermatology*. 2018;178(5):1163-72.
131. Sinclair R, Torkamani N, Jones L. Androgenetic alopecia: new insights into the pathogenesis and mechanism of hair loss. *F1000Res*. 2015;4(F1000 Faculty Rev):585.
132. Legué E, Nicolas JF. Hair follicle renewal: organization of stem cells in the matrix and the role of stereotyped lineages and behaviors. *Development*. 2005;132(18):4143-54.
133. Cotsarelis G. Epithelial stem cells: a folliculocentric view. *J Invest Dermatol*. 2006;126(7):1459-68.
134. Stenn KS, Paus R. Controls of hair follicle cycling. *Physiol Rev*. 2001;81(1):449-94.
135. Paus R, Foitzik K. In search of the "hair cycle clock": a guided tour. *Differentiation*. 2004;72(9):489-511.
136. Jahoda CAB. Cellular and developmental aspects of androgenetic alopecia. *Experimental Dermatology*. 1998;7(5):235-48.
137. Whiting DA. Possible mechanisms of miniaturization during androgenetic alopecia or pattern hair loss. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2001;45(3, Supplement):S81-S6.

138. Nyholt DR, Gillespie NA, Heath AC, Martin NG. Genetic basis of male pattern baldness. *J Invest Dermatol*. 2003;121(6):1561-4.
139. Siah T, Muir-Green L, Shapiro J. Female pattern hair loss: A retrospective study in a tertiary referral center. *International Journal of Trichology*. 2016;8(2):57-61.
140. Cranwell W, Sinclair R. Male Androgenetic Alopecia. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, de Herder WW, Dhatariya K, et al., editors. *Endotext*. South Dartmouth (MA): MDTText.com, Inc. Copyright © 2000-2022, MDTText.com, Inc.; 2000.
141. Heilmann-Heimbach S, Herold C, Hochfeld LM, Hillmer AM, Nyholt DR, Hecker J, et al. Meta-analysis identifies novel risk loci and yields systematic insights into the biology of male-pattern baldness. *Nature Communications*. 2017;8(1):14694.
142. Brockschmidt FF, Heilmann S, Ellis JA, Eigelshoven S, Hanneken S, Herold C, et al. Susceptibility variants on chromosome 7p21.1 suggest HDAC9 as a new candidate gene for male-pattern baldness. *Br J Dermatol*. 2011;165(6):1293-302.
143. Li R, Brockschmidt FF, Kiefer AK, Stefansson H, Nyholt DR, Song K, et al. Six novel susceptibility Loci for early-onset androgenetic alopecia and their unexpected association with common diseases. *PLoS Genet*. 2012;8(5):e1002746.
144. Heilmann-Heimbach S, Hochfeld LM, Paus R, Nöthen MM. Hunting the genes in male-pattern alopecia: how important are they, how close are we and what will they tell us? *Exp Dermatol*. 2016;25(4):251-7.
145. Richards JB, Yuan X, Geller F, Waterworth D, Bataille V, Glass D, et al. Male-pattern baldness susceptibility locus at 20p11. *Nat Genet*. 2008;40(11):1282-4.
146. Heilmann S, Kiefer AK, Fricker N, Drichel D, Hillmer AM, Herold C, et al. Androgenetic alopecia: identification of four genetic risk loci and evidence for the contribution of WNT signaling to its etiology. *J Invest Dermatol*. 2013;133(6):1489-96.
147. Poblet E, Jiménez F, Ortega F. The contribution of the arrector pili muscle and sebaceous glands to the follicular unit structure. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2004;51(2):217-22.
148. Torkamani N, Rufaut NW, Jones L, Sinclair R. Destruction of the arrector pili muscle and fat infiltration in androgenic alopecia. *British Journal of Dermatology*. 2014;170(6):1291-8.
149. Uezumi A, Fukada S-i, Yamamoto N, Takeda Si, Tsuchida K. Mesenchymal progenitors distinct from satellite cells contribute to ectopic fat cell formation in skeletal muscle. *Nature Cell Biology*. 2010;12(2):143-52.
150. Brack AS, Conboy MJ, Roy S, Lee M, Kuo CJ, Keller C, et al. Increased Wnt Signaling During Aging Alters Muscle Stem Cell Fate and Increases Fibrosis. *Science*. 2007;317(5839):807-10.
151. Yazdabadi A, Whiting D, Rufaut N, Sinclair R. Miniaturized Hairs Maintain Contact with the Arrector Pili Muscle in Alopecia Areata but not in Androgenetic Alopecia: A Model for Reversible Miniaturization and Potential for Hair Regrowth. *Int J Trichology*. 2012;4(3):154-7.
152. JAWORSKY C, KLIGMAN AM, MURPHY GF. Characterization of inflammatory infiltrates in male pattern alopecia: implications for pathogenesis. *British Journal of Dermatology*. 1992;127(3):239-46.
153. Fischer TW, Trüeb RM, Hänggi G, Innocenti M, Elsner P. Topical melatonin for treatment of androgenetic alopecia. *Int J Trichology*. 2012;4(4):236-45.
154. Gilliver SC, Ashworth JJ, Mills SJ, Hardman MJ, Ashcroft GS. Androgens modulate the inflammatory response during acute wound healing. *Journal of Cell Science*. 2006;119(4):722-32.

155. Yang Y-C, Fu H-C, Wu C-Y, Wei K-T, Huang K-E, Kang H-Y. Androgen Receptor Accelerates Premature Senescence of Human Dermal Papilla Cells in Association with DNA Damage. *PLOS ONE*. 2013;8(11):e79434.
156. Zouboulis CC, Degitz K. Androgen action on human skin -- from basic research to clinical significance. *Exp Dermatol*. 2004;13 Suppl 4:5-10.
157. Asada Y, Sonoda T, Ojio M, Kurata S, Sato T, Ezaki T, et al. 5 alpha-reductase type 2 is constitutively expressed in the dermal papilla and connective tissue sheath of the hair follicle in vivo but not during culture in vitro. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(6):2875-80.
158. Kaufman KD. Androgens and alopecia. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2002;198(1):89-95.
159. Sinclair R. Male pattern androgenetic alopecia. *BMJ*. 1998;317(7162):865-9.
160. Liu S, Yamauchi H. Different patterns of 5 α -reductase expression, cellular distribution, and testosterone metabolism in human follicular dermal papilla cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2008;368(4):858-64.
161. Urysiak-Czubatka I, Kmiec ML, Broniarczyk-Dyla G. Assessment of the usefulness of dihydrotestosterone in the diagnostics of patients with androgenetic alopecia. *Postepy Dermatol Alergol*. 2014;31(4):207-15.
162. Sawaya ME, Price VH. Different levels of 5alpha-reductase type I and II, aromatase, and androgen receptor in hair follicles of women and men with androgenetic alopecia. *J Invest Dermatol*. 1997;109(3):296-300.
163. Leirós GJ, Attorresi AI, Balaña ME. Hair follicle stem cell differentiation is inhibited through cross-talk between Wnt/ β -catenin and androgen signalling in dermal papilla cells from patients with androgenetic alopecia. *Br J Dermatol*. 2012;166(5):1035-42.
164. Lai JJ, Chang P, Lai KP, Chen L, Chang C. The role of androgen and androgen receptor in skin-related disorders. *Arch Dermatol Res*. 2012;304(7):499-510.
165. Inui S, Itami S. Molecular basis of androgenetic alopecia: From androgen to paracrine mediators through dermal papilla. *J Dermatol Sci*. 2011;61(1):1-6.
166. Kretzschmar K, Cottle DL, Schweiger PJ, Watt FM. The Androgen Receptor Antagonizes Wnt/ β -Catenin Signaling in Epidermal Stem Cells. *J Invest Dermatol*. 2015;135(11):2753-63.
167. Chi W, Wu E, Morgan BA. Dermal papilla cell number specifies hair size, shape and cycling and its reduction causes follicular decline. *Development*. 2013;140(8):1676-83.
168. Kishimoto J, Burgeson RE, Morgan BA. Wnt signaling maintains the hair-inducing activity of the dermal papilla. *Genes Dev*. 2000;14(10):1181-5.
169. Rendl M, Polak L, Fuchs E. BMP signaling in dermal papilla cells is required for their hair follicle-inductive properties. *Genes Dev*. 2008;22(4):543-57.
170. Colombe L, Vindrios A, Michelet JF, Bernard BA. Prostaglandin metabolism in human hair follicle. *Exp Dermatol*. 2007;16(9):762-9.
171. Garza LA, Liu Y, Yang Z, Alagesan B, Lawson JA, Norberg SM, et al. Prostaglandin D2 inhibits hair growth and is elevated in bald scalp of men with androgenetic alopecia. *Sci Transl Med*. 2012;4(126):126ra34.
172. Colombe L, Michelet JF, Bernard BA. Prostanoid receptors in anagen human hair follicles. *Exp Dermatol*. 2008;17(1):63-72.
173. Sasaki S, Hozumi Y, Kondo S. Influence of prostaglandin F2alpha and its analogues on hair regrowth and follicular melanogenesis in a murine model. *Exp Dermatol*. 2005;14(5):323-8.

174. Dutkiewicz R, Albert DM, Levin LA. Effects of Latanoprost on Tyrosinase Activity and Mitotic Index of Cultured Melanoma Lines. *Experimental Eye Research*. 2000;70(5):563-9.
175. Zhao H, Li M, Ouyang Q, Lin G, Hu L. VEGF Promotes Endothelial Cell Differentiation from Human Embryonic Stem Cells Mainly Through PKC- ϵ / η Pathway. *Stem Cells Dev*. 2020;29(2):90-9.
176. Fagot D, Buquet-Fagot C, Mester J. Mitogenic signaling by prostaglandins in chemically transformed mouse fibroblasts: comparison with phorbol esters and insulin. *Endocrinology*. 1993;132(4):1729-34.
177. Li LF, Guo J, Gao ZF. Overexpression of skin protein kinase C- α in anagen hair follicles during induced growth of mouse hair. *Clin Exp Dermatol*. 2003;28(4):429-33.
178. Xu XG, Chen HD. Prostanoids and Hair Follicles: Implications for Therapy of Hair Disorders. *Acta Derm Venereol*. 2018;98(3):318-23.
179. Johnstone MA. Hypertrichosis and increased pigmentation of eyelashes and adjacent hair in the region of the ipsilateral eyelids of patients treated with unilateral topical latanoprost. *American journal of ophthalmology*. 1997;124(4):544-7.
180. Blume-Peytavi U, Lönnfors S, Hillmann K, Garcia Bartels N. A randomized double-blind placebo-controlled pilot study to assess the efficacy of a 24-week topical treatment by latanoprost 0.1% on hair growth and pigmentation in healthy volunteers with androgenetic alopecia. *J Am Acad Dermatol*. 2012;66(5):794-800.
181. Bloch LD, Escudeiro CC, Sarruf FD. Latanoprost and minoxidil: comparative double-blind, placebo-controlled study for the treatment of hair loss.
182. Khidhir KG, Woodward DF, Farjo NP, Farjo BK, Tang ES, Wang JW, et al. The prostamide-related glaucoma therapy, bimatoprost, offers a novel approach for treating scalp alopecias. *The FASEB Journal*. 2013;27(2):557-67.
183. Liang Y, Woodward DF, Guzman VM, Li C, Scott DF, Wang JW, et al. Identification and pharmacological characterization of the prostaglandin FP receptor and FP receptor variant complexes. *Br J Pharmacol*. 2008;154(5):1079-93.
184. Randall VA, Jenner TJ, Hibberts NA, De Oliveira IO, Vafaei T. Stem cell factor/c-Kit signalling in normal and androgenetic alopecia hair follicles. *J Endocrinol*. 2008;197(1):11-23.
185. Inui S, Fukuzato Y, Nakajima T, Yoshikawa K, Itami S. Identification of Androgen-Inducible TGF- β 1 Derived from Dermal Papilla Cells as a Key Mediator in Androgenetic Alopecia. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. 2003;8(1):69-71.
186. Allergan. A Safety and Efficacy Study of Bimatoprost in Men With Androgenic Alopecia (AGA) <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01904721>: ClinicalTrials.gov; 2016 [
187. DuBois J, Bruce S, Stewart D, Kempers S, Harutunian C, Boodhoo T, et al. Setiprant for Androgenetic Alopecia in Males: Results from a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 2a Trial. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2021;14:1507-17.

Anexos

Anexo 1 – Panfleto elaborado no âmbito da Atividade 4.

VAMOS FALAR SOBRE A PELE?

A pele é o maior órgão do corpo e tem como papel principal atuar como uma barreira química e física para proteger o corpo contra agentes ambientais externos nocivos, nomeadamente, a exposição à radiação ultravioleta (UV) – mais especificamente UVA, UVB e UVC.

UVA	UVB	UVC
- Mais nociva para a pele. - Causa envelhecimento precoce e cancro da pele. - Intenso durante o ano todo.	- Causa queimaduras solares e vermelhidão. - Causa danos durante o verão.	Somente nociva para animais.

As 3 camadas principais da pele

Epiderme – camada mais externa da pele e protege contra agressões externas.

Derme – responsável pela resistência e elasticidade da pele.

Hipoderme – reserva energética e isolante térmico.

Apesar de inúmeras campanhas de sensibilização, a taxa de incidência de cancro da pele continua a aumentar no país.

O tom bronzeado só é sinónimo de saúde e bem-estar se respeitar quatro regras:

Proteção solar contra UVA/UVB adequada ao fotótipo da pele;

Beber muita água para garantir a hidratação corporal;

Não se expor ao sol nos horários de maior radiação solar, **entre as 11h e as 17h**, e alternar entre sol e sombra, sempre que possível;

Aplicar um bom hidratante na pele após a exposição solar.

FARMÁCIA ALIANÇA
Rua da Conceição, 2-18 4050-213, Porto
Telefone: 22 207 3500 E-mail: aliancaporto@gmail.com

Importância da suplementação no Verão

Muitas vezes pode manifestar **alergia, irritação e envelhecimento precoce**. Por isso, é importante prepará-la antes das primeiras exposições anuais.

COMO POSSO PREPARAR A PELE PARA A EXPOSIÇÃO AO SOL?

Esta tem células denominadas melanócitos que produzem melanina – **substância responsável pela pigmentação** – conferindo proteção à radiação solar.

A ativação da melanina pode ser feita pelo sol mas também com o recurso a suplementos alimentares, nunca desfazendo uma dieta rica em alguns alimentos.

São vários os micronutrientes envolvidos na estimulação e proteção solar, tais como:

Vitaminas A, C e E

Propriedades antioxidantes que promovem a regeneração e proteção da pele contra os UV.

Prevêm o envelhecimento cutâneo e participam na formação de colagénio.

Adicionalmente, a vitamina C aumenta a resistência à radiação UVA.

Zinco

Desempenha funções estruturais e reguladoras da pele.

Antioxidante.

Cobre

Para além das suas funções anti oxidativas, contribui para a regeneração da pele.

Selénio

Poderoso antioxidante e protetor do tecido cutâneo.

Ômega-3

A nível cutâneo, favorece a absorção de nutrientes mantendo o bronzeado por mais tempo.

Também é um poderoso antioxidante.

β-caroteno

Propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias.

Em virtude destas informações, é possível preparar a pele para a exposição solar. Complementar a suplementação com os restantes cuidados não farmacológicos **garante a integridade e saúde da pele.**

Anexo 2 – Formação interna apresentada aos colaboradores da Farmácia Aliança no âmbito do **Projeto 2**.



The image shows the Table of Contents slide. The background is a light beige color with a subtle pattern of green leaves. The title 'Índice' is centered at the top in a large, bold, black font. Below the title, there are six numbered sections arranged in two columns. Each section has a title and a list of sub-topics. A small white asterisk is located in the bottom left corner of the slide.

01 Introdução	02 Perfil Fitoquímico
→ Contextualização	→ Constituição da silimarina
	→ Biossíntese da silimarina
03 Farmacocinética	04 Farmacodinâmica
→ Absorção	→ Propriedades antioxidantes
→ Distribuição	→ Propriedades anti-inflamatórias
→ Metabolismo	→ Propriedades anti-fibróticas
→ Eliminação	
05 Evidência Clínica	06 Conclusão
→ Doença hepática induzida por drogas	
→ Esteatose hepática não alcoólica	
→ Hepatite C	

01 Introdução

Contextualização



- * *Silybum marianum*
- * Ordem *Asteraceae*
- * Nativa da região mediterrânea e asiática

Medicina Tradicional Chinesa

- * Efeitos de limpeza e desintoxicação
- * O fruto contém um complexo de compostos flavolignanos biológicos, a silimarina, que é responsável pelos efeitos farmacológicos, nomeadamente, hepatoprotetor, anti-inflamatório e antioxidante

Global Burden of Disease

- * Em 2017 ocorreram 2,14 milhões de mortes devido a doenças hepáticas
- * A nível global as doenças hepáticas corresponderam a 1,6% dos DALY e 2,1% dos YLD





02

Perfil Fitoquímico

Constituição da silimarina

Biossíntese da silimarina

3 Pl. 53. Milk Thistle (p. 45). D 45. Silybum marianum. COMPOSITAE.

*

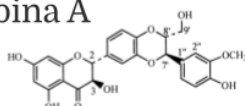
Constituição da silimarina

57% - 71%
Extrato de
silimarina

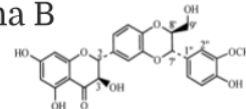
Conteúdo da silimarina

Depende
fortemente da
cultivação,
localização e
condições
agronômicas.

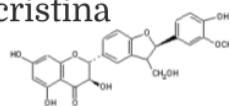
Silibina A



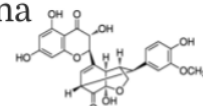
Silibina B



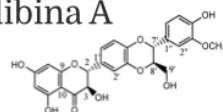
Silicristina



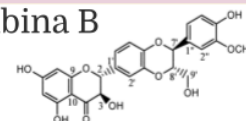
Silidianina



Isosilibina A



Isosilibina B



Constituição da silimarina

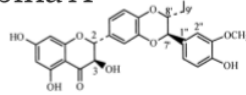
57% - 71%

Extrato de
silimarina

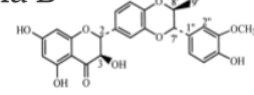
Conteúdo da silimarina

Depende
fortemente da
cultivação,
localização e
condições
agronômicas.

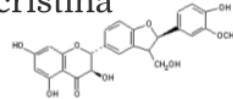
Silibina A



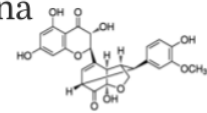
Silibina B



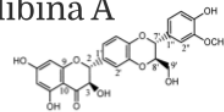
Silicristina



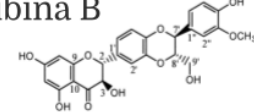
Silidianina



Isosilibina A

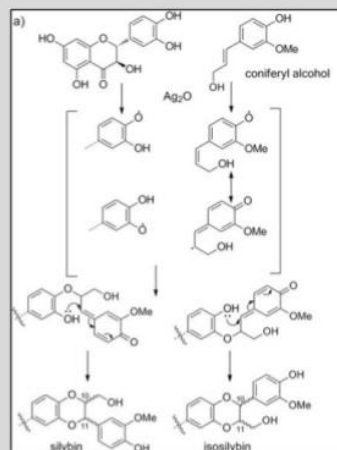


Isosilibina B



Os flavonolignanos silimarínicos são derivados da taxifolina e do álcool conífero por um de dois mecanismos plausíveis.

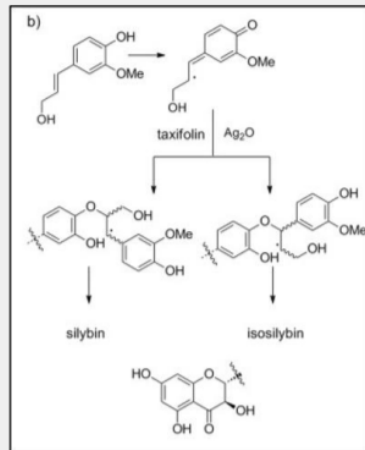
Proposta de Althagafy



- Formação de um único radical pelo álcool conífero
- Reação com a taxifolina
- Oxidação do produto para originar os componentes do complexo silimarina



Hipótese tradicional de Freudenburgs



- Acoplamento oxidativo radical de um grupo 3',4' - dihidroxilo do anel B de dihidroflavonol da taxifolina com o radical do álcool conífero
- Formação de um radical livre de taxifolina de um eletrão
- Reação de um radical livre de álcool conífero para fornecer o intermediário
- Ciclização pelo ataque do nucleófilo do fenol ao sistema de quinona de metano
- Formação dos dois flavonolignanos trans diastereoméricos, **silibina A e silibina B**



03 Farmacocinética

Absorção
Distribuição
Metabolismo
Eliminação



Absorção

Silimarina

Rapidamente absorvida pelas células do trato gastrointestinal.

Silidianina e Silicristina

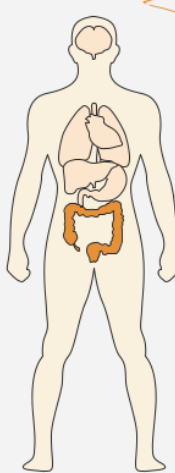
Menos lipofílicas que a **silibina**, apesar desta apresentar muitos grupos hidrófilos.

0,95%

Biodisponibilidade da **silibina** administrada por via oral.

Silibina

- Boa penetração nas células do trato gastrointestinal
- Substrato de transportadores de efluxo.
- Permeabilidade limitada.



*

Distribuição

Conjugação

Rápida glucoronidação hepática.

Fígado

Apenas 1-2% de silibina se distribui para o fígado de rato.

01

02

03

04

Pico Plasmático

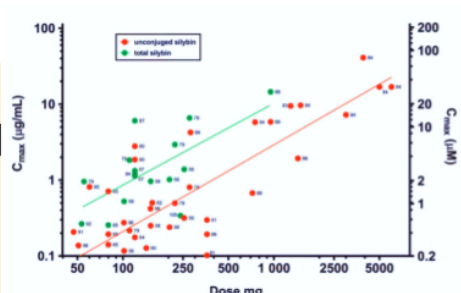
No plasma humano, a concentração é máxima entre 1-3h.

Restantes órgãos

1-3% da silibina distribui-se pelo coração, músculos, rins, baço e tecido adiposo.

- Foi sugerida uma relação linear entre a dose oral do extrato padronizado e a concentração plasmática máxima.

- Verificação de uma relação linear.



*

Metabolismo

Reações de fase I

Num modelo *ex vivo* a extensão das reações de fase I não excede 1-2% do substrato após 30 minutos.

Metabolitos

Não se encontram metabolitos de fase I para a **silibina**, a **silicristina** e a **isosilibina A**. Para a **isosilibina B** encontram-se quantidades marginais.



Reações de fase II

Num modelo *in vivo* a maioria dos flavolignanos são conjugados (83% do total da **silimarina** plasmática e 99% da fração urinária).

Metabolitos

No plasma, 60% da **silibina A** está na sua forma livre; 81,5% da **isosilina B** é conjugada e 100% da **silidianina** é conjugada.



Metabolismo

Fígado

Transporte de conjugados para a circulação sistêmica é marginal em comparação com o transporte para a biliar.

Isosilibina A

A **isosilibina A** é o flavolignano com maior transporte para a circulação sistêmica.



Bilis

Em pacientes colostomizados não são encontradas as formas livres de **silibina**, **silicristina** e **silidianina**.

Circulação Enterohepática

Presença de picos secundários no plasma a cada 3-6h. Com maior preponderância para a **silbina A e B**, e **silicristina**.



Eliminação

Fezes

- A maioria dos flavolignanos ingeridos são excretados pelo trato gastrointestinal.

Urina

- A excreção de **silibina** livre e **isosilibina** é rápida, mas de baixa magnitude, após 2h.
- Picos secundários para os diastereômeros da **silibina**, após 15h e 24h para as **isosilibinas**.

Conjugados

- Picos de concentração urinária de monoglucoronídeos encontrados após 2h.
- Picos adicionais após 24-28h e 32-39h, que sugerem a existência de circulação enterohepática supracitada.



04 Farmacodinâmica

Propriedades antioxidantes
Propriedades anti-inflamatórias
Propriedades anti-fibróticas



Propriedades antioxidantes

- Produção de glutathiona
- Inibição da peroxidação lipídica
- Inibição da ativação do NF- κ B
- Restaurar a homeostase do NADPH
- Melhorar a função da PARP e SIRT1
- Diminuição da lipogénese *de novo*
- Indução da via Nrf2/Keap1/ARE



Propriedades anti-inflamatórias

- Supressão da translocação e ligação do NF- κ B
- Supressão da apoptose pela via do TNF- α
- Inibição da via da 5-LOX
- Inibição da expressão da VCAM-1, ICAM-1 e E-selectina
- Restauração da via IRS-1/PI3K/Akt
- Ativação do recetor farnesil X
- Diminuição da fosforilação da JNK



Propriedades anti-fibróticas

- Inibição da produção de pró-colagénio em células esteladas hepáticas
- Diminuição dos níveis de colagénio tipo 1 e mRNA de pró-colagénio, num estudo em babuínos



05 Evidência Clínica

Doença hepática induzida por drogas
Esteatose hepática não alcoólica
Hepatite C

Doença hepática induzida por drogas

Silimarina (140mg tid)

- * Pacientes com tuberculose
- * Tratamento com fármacos anti-tuberculose
- * 4 semanas

01 Análise

- ALT e AST
- SOD, MDA e GSH
- Bilirrubina
- Sintomas de hepatotoxicidade

02 Resultados

- Incidência de hepatotoxicidade inferior (3,7% vs 32,1%)
- Enzimas hepáticas sem alteração relevantes
- GSH e MDA sem alteração relevante
- SOD diminuiu menos no grupo de silimarina (-0,20% vs 4,41%)



Esteatose hepática não alcoólica

Silimarina (700mg tid)

- * Pacientes com esteatose hepática não alcoólica
- * 48 semanas

EH não alcoólica é a forma mais severa da MAFLD, que pode progredir para cirrose. Neste sentido avaliou-se, adicionalmente, o impacto do tratamento com silimarina na fibrose hepática.

01 Análise

- NASH & NAFLD Activity Score
- Inflamação lobular
- Perfil lipídico e hepático
- Balonização dos hepatócitos
- Fibrose

02 Resultados

- Enzimas hepáticas sem alteração relevantes
- Diminuição da inflamação lobular, balonização dos hepatócitos e no NASH & NAFLD Activity Score
- No grupo de tratamento: melhorias significativas na fibrose e consequente diminuição na progressão para cirrose



Hepatite C

Silibina A e B (IV)

01

- * Tratamento de pacientes com HCV que não respondem ao tratamento com peg-INF/Ribavarina

Resultados

- Diminuição da RNA do vírus, no soro

02

- * Prevenir recaídas em pacientes com HCV que não respondem ao tratamento com pg-INF/Ribavarina
- * 14 dias

Resultados

- Diminuição da carga viral após 14 dias
- Apesar disto, não erradicou vírus



06 Conclusão

Obrigado a todos
pela vossa atenção





RELATÓRIO DE ESTÁGIO

RUA DE JORGE VITERBO FERREIRA
N.º 228, 4050-313 PORTO - PORTUGAL
www.ff.up.pt