

Filipa Amaral Borges

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada *Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento* referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, respetivamente, da Doutora Dulce Quelhas, Doutora Isabel Osório e da Professora Doutora Cláudia Cavadas e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Filipa Amaral Borges

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada *Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento*, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, respetivamente, da Doutora Dulce Quelhas, Doutora Isabel Osório e da Professora Doutora Cláudia Cavadas e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2017



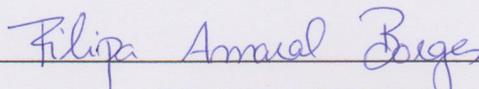
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Filipa Amaral Borges, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2012154879, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 15 de Setembro de 2017.

Assinatura



(Filipa Amaral Borges)

Agradecimentos

À minha família, que permitiu que tudo isto fosse possível e me apoiou incondicionalmente durante todo o tempo. Um agradecimento especial à minha irmã, Rita, que me foi dando força todos os dias.

Ao meu namorado, que sempre me motivou a dar o melhor de mim e que sempre acreditou que podia fazer mais e melhor.

À Dra. Dulce Quelhas e Dra. Isabel Osório por me terem aceiteado como estagiária, e me terem orientado, fazendo-me crescer tanto ao nível profissional como ao nível pessoal. Agradeço-lhes todos os ensinamentos e a sua dedicação para que aproveitasse da melhor maneira todo o tempo que tinham acreditando sempre em mim. Um agradecimento especial à Dra. Dulce Quelhas por toda a paciência e disponibilidade, pela grande ajuda e trabalho fantástico que me ajudou a concretizar.

À minha orientadora, Professora Dra. Cláudia Cavadas, pela ajuda na orientação da minha monografia.

Às amigas da faculdade, em especial à Priscila Arrais e à Sofia Bastos, que sempre me ajudaram ao longo de todo o curso, principalmente nas horas mais difíceis da época de exames.

À minha madrinha de praxe, que fez com que a minha integração na faculdade fosse mais fácil e me deu toda a ajuda necessária para que todo o meu percurso académico fosse bem sucedido.

À equipa do CGMDJM e da Farmácia Cardona dos Santos pelo excelente acolhimento e integração, por todo o apoio, paciência, disponibilidade, companheirismo e, acima de tudo, pela partilha de conhecimentos.

A todos, um muito obrigada!

Resumo

A glicosilação é uma modificação pós-traducional que ocorre em quase todos os processos biológicos e que influencia o desenvolvimento, crescimento e funcionamento das células e dos organismos. Sendo o produto da interação entre genoma e fatores ambientais, a análise da glicosilação pode fornecer informações sobre este processo.

A glicosilação é um processo no qual resíduos de açúcares são adicionados a proteínas em locais específicos. Consoante o local onde os açúcares são adicionados assim podemos classificar os vários tipos de glicosilação.

É essencial para a biossíntese e enrolamento das proteínas, para a atividade de enzimas e hormonas, para o funcionamento de recetores celulares, reconhecimento de anticorpos, transportadores, síntese de fatores de coagulação sanguíneos e ainda para a maioria das proteínas membranares e muitas proteínas intracelulares.

Um défice neste processo – CDG - pode levar a uma apresentação clínica multissistémica grave ou pode ter um fenótipo atenuado, dependendo do gene afetado. Estes défices foram descritos pela primeira vez em 1980, por J. Jaeken, e constituem agora um grupo de 104 subtipos de doenças hereditárias. Este é um grupo crescente, uma vez que muitos dos subgrupos se encontram ainda subdiagnosticados e também porque patologias multissistémicas, cujo diagnóstico é ainda desconhecido, podem ser potenciais CDG.

São habitualmente patologias com um modo de transmissão de forma autossómica recessiva, havendo alguns casos ligados ao cromossoma X ou com transmissão de forma autossómica dominante.

Em muitas doenças genéticas e crónicas, a glicosilação das proteínas está muito alterada. Uma análise da glicosilação tem, então, o benefício de nos fornecer informação sobre o estado atual do doente, permitindo um diagnóstico precoce e consequente monitorização terapêutica.

A maioria dos défices congénitos da glicosilação não tem tratamento, sendo que a intervenção clínica passa por minimizar a sintomatologia associada de modo a melhorar a qualidade de vida do doente.

Palavras-Chave: Glicosilação, CDG, fenótipo, transmissão, tratamento

Abstract

Glycosylation is a post-translational process that can be found in almost every biological processes, influencing development, growth and the regular function of cells and organisms. Being the product of genome and environment interaction, informations of this interaction can be found in glycosylation analysis.

Glycosylation is a process in which sugar residues are added to specific loci in proteins. The different types of glycosylation classification depend on these mentioned loci where the sugar residues are added.

Fundamental in biosynthesis, protein folding, enzyme and hormones activity, glycosylation also plays a major role in receptor roles, antibodies and transporters recognition, coagulation factors synthesis and for most of membrane proteins and intercellular proteins.

A deficit in glycosylation (CDG) can lead to a serious clinical multisystemic presentation or it can be presented with a softer phenotype, depending on the affected gene. These deficits were first described by Jaeken, in 1980, and are now systematized as a group of 104 subtypes of hereditary diseases. This is still a growing number, as many of these subtypes are under diagnosed and multisystem pathologies with no known diagnoses can be potential CDG.

The mode of inheritance is mainly autossomic recessive, some cases being X-linked or autosomal dominant.

In many genetic or chronic diseases, protein glycosylation is shown to be greatly altered. Analyzing this process can provide useful information about the current state of the patient, allowing for a early diagnose and therapeutic monitoring.

Most of CDG are untreatable. The clinical intervention must then be focused on enhancing the patients' overall life quality and diminishing the associated symptomatology.

Key-words: Glycosylation, CDG, phenotype, transmittion, treatment

Índice

Monografia.....	11
Abreviaturas.....	12
Introdução.....	14
I. Défices congénitos da Glicosilação.....	17
I.1. Defeitos na N-glicosilação.....	18
I.1.1. PMM2-CDG.....	18
I.1.2. ALG6-CDG.....	19
I.1.3. ALG8-CDG.....	20
I.1.4. ALG1-CDG.....	21
I.1.5. ALG9-CDG.....	21
I.1.6. DPAGT1-CDG.....	22
I.1.7. MPI-CDG.....	22
I.1.8. ALG14-CDG.....	22
I.2. Defeitos na O-glicosilação.....	23
I.2.1. B4GALT7-CDG	23
I.2.2. EXT1/EXT2-CDG.....	23
I.2.3. XYLT1-CDG.....	24
I.2.4. XYLT2-CDG.....	24
I.2.5. POGLUT1-CDG.....	25
I.3. Defeito na síntese do O-manosilglicano.....	25
I.3.1. ISPD-CDG.....	26
I.3.2. FKTN-CDG.....	26
I.3.3. FKRP-CDG.....	26
I.3.4. TMEM5-CDG.....	27
I.4. Defeitos noutras vias de glicosilação.....	27
I.4.1. DHDDS-CDG.....	27
I.4.2. CAD-CDG.....	27
I.4.3. GFPT1-CDG.....	28
I.4.4. GNE-CDG.....	28
I.4.5. PGM1-CDG.....	29
I.4.6. PGM3-CDG.....	29
I.4.7. SLC35A2-CDG.....	29

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

1.4.8. SLC35C1-CDG.....	30
1.4.9. ATP6API-CDG.....	30
1.4.10. ATP6VIA-CDG.....	31
1.4.11. ATP6VIE1-CDG.....	31
1.4.12. CCDC115-CDG.....	32
1.4.13. SLC39A8-CDG.....	32
1.4.14. TRAPPC11-CDG.....	32
1.5. Defeitos na glicosilação de lípidos e na síntese do GPI.....	33
1.5.1. DOLK-CDG.....	33
1.5.2. PIGW-CDG.....	34
1.5.3. PIGC-CDG.....	34
1.5.4. PIGG-CDG.....	35
1.5.5. PIGA-CDG.....	35
2. Novos mecanismos de CDG.....	35
3. Diagnóstico.....	36
4. Tratamento.....	39
5. Caso Clínico.....	40
6. Conclusões e perspetivas futuras.....	41
Anexos.....	42
Bibliografia.....	46
Relatório de Estágio em Laboratório de Análises.....	52
Abreviaturas.....	53
1. Introdução.....	54
2. Apresentação do Centro de Genética Médica Dr. Jacinto Magalhães.....	55
3. Unidade de Bioquímica Genética.....	55
4. Análise S.W.O.T.	56
4.1. Pontos Fortes.....	56
4.1.1. Acolhimento e integração no CGMJM.....	56
4.1.2. Oportunidade de expansão de conhecimentos na área das doenças raras e genética.....	57

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

4.1.3.	Diferentes análises, técnicas específicas e diferentes técnicos.....	57
4.1.4.	Integração de uma equipa multidisciplinar.....	58
4.1.5.	Orientação e acompanhamento feito por uma farmacêutica.....	58
4.2.	Pontos Fracos.....	59
4.2.1.	Duração muito curta.....	59
4.2.2.	Equipamento partilhado com o Hospital Geral de Santo António.....	59
4.3.	Oportunidades.....	59
4.3.1.	Desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico.....	59
4.3.2.	Farmacêuticos com formação de genética médica.....	60
4.4.	Ameaças.....	60
4.4.1.	Concorrência de outros laboratórios de diagnóstico de doenças raras.....	60
5.	Conclusão.....	61
	Bibliografia.....	62
	Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária.....	63
	Abreviaturas.....	64
1.	Introdução.....	65
2.	Farmácia Cardona dos Santos.....	66
3.	Análise S.W.O.T.	66
3.1.	Pontos Fortes.....	66
3.1.1.	Atendimento ao público.....	66
3.1.2.	Diversidade de produtos.....	67
3.1.3.	Dinamização e gestão da Farmácia.....	70
3.1.4.	Preparação de Medicamentos Manipulados.....	71
3.1.5.	Formações pertinentes.....	72
3.1.6.	Programa VALORMED.....	72
3.1.7.	4DigitalCare.....	73
3.1.8.	Farmácia nas redes sociais.....	74
3.2.	Pontos Fracos.....	74
3.2.1.	Pouco contato com a componente prática.....	74
3.2.2.	Seguimento Farmacoterapêutico.....	75
3.3.	Oportunidades.....	76
3.3.1.	Vendas cruzadas.....	76

<i>Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento</i>	
3.3.2. Estágios de verão.....	76
3.4. Ameaças.....	76
3.4.1. Medicamentos originais VS medicamentos genéricos.....	76
3.4.2. Medicamentos LASA (<i>look-alike, sound-alike</i>).....	77
3.4.3. Alterações nos preços e participação dos medicamentos.....	77
4. Caso Clínico.....	78
5. Conclusão.....	79
Bibliografia.....	80

MONOGRAFIA

Abreviaturas

- Apo C-III- Apolipoproteína C-III, do inglês *Apolipoprotein C-III*
- AT- Antitrombina, do inglês *Antithrombin*
- CDA II- anemia diseritropoiética congénita tipo 2, do inglês *Congenital dyserythropoietic anemia type 2*
- CDG- Défice congénito da glicosilação, do inglês *congenital disorders of glycosylation*
- CDT- citidina difosfato, do inglês *cytidine diphosphate*
- DLO- oligossacarídeo ligado ao dolicol, do inglês *dolichol-linked oligosaccharide*
- DNA- Ácido desoxirribonucleico, do inglês *Deoxyribonucleic acid*
- Dol-P- Dolíclil monofosfato, do inglês *dolichyl monophosphate*
- ERGIC-ER- Compartimento intermediário do Golgi, do inglês *Golgi intermediate compartment*
- ESI-TOF- electrospray ionisation time-of-flight
- FCT- Calcínose tumoral familiar, do inglês *familial tumoral calcinosis*
- Gal- galactose, do inglês *galactose*
- GDP- guanosina difosfato, do inglês *guanosine diphosphate*
- Glc- glucose, do inglês *glucose*
- GlcNAc- N-acetilglucosamina, do inglês *N-acetylglucosamine*
- GlcNAc-PP-Dol- N-glucosamina-pirofosfatidolicol, do inglês *N-acetylglucosamine-pyrophosphatedolichol*
- GM3- Lactosilceramida α -2,3-sialiltransferase (GM3 sintase), do inglês *lactosylceramide α -2,3-sialyltransferase*
- GPI- Glicosilfosfatidilinositol, do inglês *Glycosylphosphatidylinositol*
- IEF- Focagem isoelétrica, do inglês *Isoelectrofocusing*
- LAMP- Proteína lisossomal associada à membrana, do inglês *Lysosome-Associated Membrane Protein*
- LDL- lipoproteína de baixa densidade, do inglês *low density lipoprotein*
- LLO- oligossacárido ligado ao lípido, do inglês *lipid-linked oligosaccharide*
- Man- Manganês, do inglês *manganese*
- Man- Manose, do inglês *Mannose*
- NeuAc- ácido siálico carregado negativamente, do inglês *negatively charged sialic acid*
- RE- Retículo endoplasmático, do inglês *endoplasmic reticulum*

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

sLe^a - sialil Lewis, do inglês *sialyl Lewis*

Tf- Transferrina, do inglês *Transferrin*

UDP- uridina difosfato, do inglês *uridine diphosphate*

UTP- Uridina trifosfato, do inglês *uridine triphosphate*

Xyl- xilose, do inglês *xylose*

Introdução

Glicosilação é um processo dinâmico, pós-traducional, que ocorre após a síntese proteica. Os glicanos têm uma função muito importante na maioria dos processos biológicos como no enrolamento de proteínas, sua atividade biológica e interações célula-célula (Van Scherpenzeel et al., 2016). O glicoma, conjunto de todas as estruturas com açúcar, é no seu conjunto maior e mais complexo do que o genoma necessário para a sua codificação (Freeze et al., 2012), e é o resultado da interação do genoma com os fatores ambientais (Van Scherpenzeel et al., 2016).

A glicosilação ocorre em vários compartimentos celulares: citoplasma, retículo endoplasmático (RE), complexo de Golgi e compartimento intermediário do Golgi (ERGIC) (Scott et al., 2014).

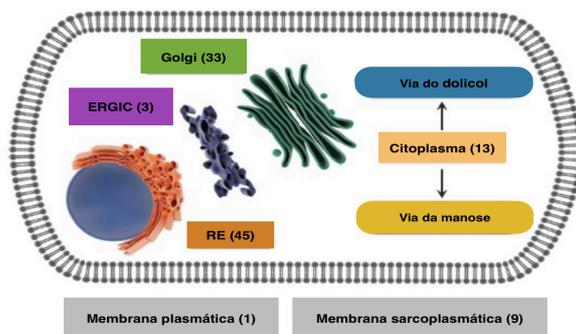


Figura 1: Localização celular dos CDG conhecidos. O número de CDG conhecido em cada local está indicado entre parêntesis. Adaptado de (Jaeken & Péanne, 2017)

Existem vários mecanismos de glicosilação: N-glicosilação, O-glicosilação (Jaeken, Hennet, Matthijs, & Freeze, 2009), em glicolípidos e glicosilação ancorada no Glicosilfosfatidilinositol (GPI) (Scott et al., 2014).

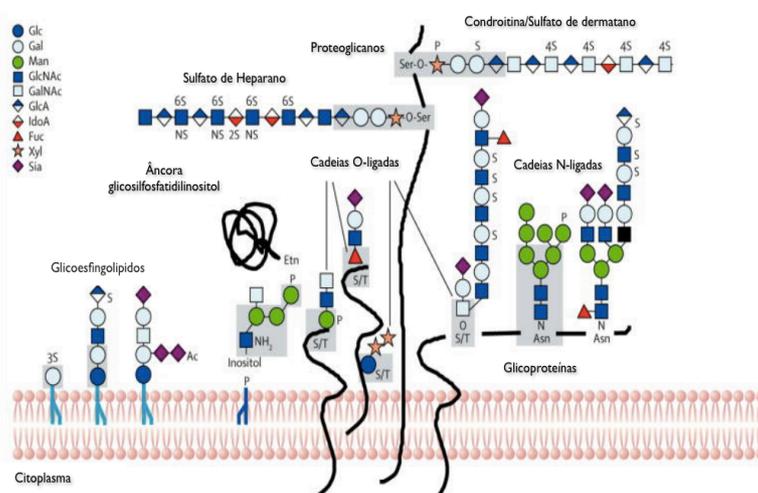


Figura 2. Tipos de glicosilação no RE-Golgi. Os principais tipos de glicosilação estão representados. São dados como exemplo várias estruturas de cadeias de açúcares. As áreas a cinzento representam regiões comuns. Existem outros tipos de glicosilação que não estão representadas, como O-GlcNAc citoplasmático. Adaptado de (Freeze et al., 2012)

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

A O-glicosilação consiste na ligação de grupos hidroxilo nos resíduos de treonina e serina. Neste caso não há processamento, apenas montagem (Jaeken, 2013). Ao contrário do que acontece na N-glicosilação, esta montagem ocorre maioritariamente no Aparelho de Golgi. O-N-acetilgalactosaminilglicanos (glicanos tipo mucinas), O-xilosilglicanos (glicosaminilglicanos), O-manosilglicanos e O-fucosilglicanos são exemplos de O-glicanos importantes (Jaeken, 2013).

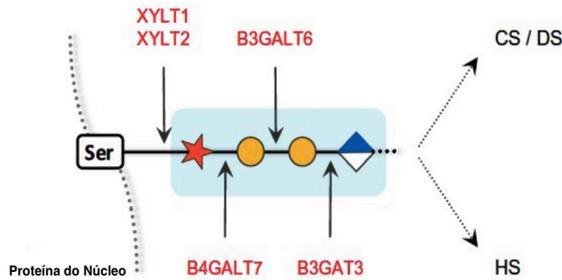


Figura 4: Defeitos na O-glicosilação. Os glicosaminoglicanos (GAG) são polímeros longos não ramificados que são obtidos pela repetição de unidades de dissacarídeos. Eles estão O-ligados a um resíduo de serina de uma proteína do núcleo. Uma vez que o tetrassacarídeo de ligação está completo, a adição do quinto açúcar é que determina o tipo de GAG sintetizado: GalNAc para cadeiras de sulfato de condroitina (CS) e sulfato de dematano (DS), ou GalNAc para sulfato de heparano (HS). Adaptado de (Jaeken & Péanne, 2017)

Todas as proteínas que passam pelo complexo RE-Golgi são N-glicosiladas. Estes glicanos promovem o enrolamento de proteínas, estabilidade, tráfego, localização e oligomerização. Têm uma função essencial nas interações célula-célula e sinalização intracelular (Freeze et al., 2012). São também estes glicanos que permitem que as moléculas do nosso organismo possam ser dirigidas para os seus devidos locais, seja o local onde vão exercer a sua função fisiológica ou para serem degradadas (Freeze et al., 2012).

A glicosilação é essencial para os processos de resposta imune do nosso organismo e para que as células sejam apresentadas e reconhecidas entre elas (Monticelli, Ferro, Jaeken, dos Reis Ferreira, & Videira, 2016). As ações antigénio-anticorpo são possíveis devido a este processo (Monticelli et al., 2016).

Foi também provado que o processo de glicosilação é essencial para que sejamos capazes de ter funções cognitivas superiores (Hu et al., 2011).

I. Défices congénitos da Glicosilação

Os défices congénitos da glicosilação (CDG) são um grupo de doenças multissistémicas hereditárias, sendo a maioria transmitida de forma autossómica recessiva. Estamos perante um CDG quando há um defeito na síntese da fração glicano das glicoproteínas ou glicolípidos e/ou na junção desses glicanos a proteínas ou lípidos (Jaeken, 2013).

Os défices de glicosilação podem ser de hipoglicosilação ou de hiperglicosilação (Jaeken & Péanne, 2017).

No caso das doenças genéticas de hipoglicosilação, estas podem ser divididas em défices congénitos de glicosilação primários e em doenças genéticas que causam hipoglicosilação secundária, como a galactosémia e intolerância hereditária à frutose (Jaeken & Péanne, 2017). Causas não genéticas de hipoglicosilação podem ser internas, como hemoglobinúria paroxismal noturna, ou externas, como o alcoolismo crónico e infeções com microrganismos produtores de neuroaminidase (Jaeken & Péanne, 2017).

Dentro dos defeitos por hiperglicosilação, podemos distinguir dois grupos: mutações que introduzem uma nova base para a glicosilação (como uma aspargina, treonina ou serina) e quando a introdução de um novo glicano é causada por uma doença (ganho de mutações de glicosilação) (Vogt et al., 2007); o segundo grupo compreende doenças genéticas devido a uma deficiente deglicosilação: defeitos lisossomais na degradação de glicoesfingolípidos, glicosaminoglicanos, glicoproteínas e deficiência na N-glicanase I (Jaeken & Péanne, 2017).

De acordo com a nomenclatura atual (Jaeken et al., 2009) os CDG podem ser divididos em quatro grupos bioquímicos diferentes, compreendendo erros em proteínas N-glicosiladas, O-glicosiladas, em glicolípidos e em glicosilação ancorada na GPI. Estima-se que, das 104 doenças genéticas humanas ligadas à glicosilação anormal (descritas até à data), cerca de 80 tipos são de N-glicosilação (AlSubhi et al., 2016)

Há subtipos de CDG já descritos que apresentam fenótipos mais graves ou mais suaves consoante o gene afectado pela mutação. As designações do subtipo de CDG são feitas pela indicação do nome do gene que é afectado seguido da designação CDG. O subtipo mais comum é o PMM2-CDG, que é um defeito na N-glicosilação (Jaeken, 2013).

Embora os CDG sejam classicamente descritos como doenças multiorgânicas alguns dos CDG afetam um só órgão, sendo exemplos o TUSC3-CDG e ST3GAL3-CDG

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

(cérebro), SEC23B-CDG (glóbulos vermelhos), ALG2-CDG, ALG14-CDG e GFT1-CDG (junção neuromuscular), POFUT1-CDG (pele), POGLUT1-CDG (pele ou músculos esqueléticos), EXT1/EXT2-CDG (cartilagem) e TMEM199-CDG (fígado)(Jaeken & Péanne, 2017).

Atualmente o primeiro passo para o diagnóstico dos subgrupos de CDG com locais de glicosilação nas proteínas não ocupados, levando a falta de glicanos completos (CDG-I) e defeitos em que os glicanos estão imaturos (CDG-II) é feito usando o biomarcador da transferrina (Tf) (Van Scherpenzeel et al., 2016).

A transferrina é uma glicoproteína transportadora de ferro muito abundante no soro (Thormann et al., 2017). Possui dois locais independentes de ligação ao ferro (um localizado no N terminal e outro no C terminal) e duas cadeias de N-glicanos, o que facilita a detecção dos defeitos de glicosilação associados à deficiência em ácido siálico (Caslavska & Thormann, 2017).

As duas cadeias diferem no seu grau de ramificação, apresentando estruturas bi, tri e tetra ramificadas (Caslavska & Thormann, 2017). Os N-glicanos completos contêm um resíduo de ácido siálico no terminal de cada ramo, que lhe confere uma carga negativa (Caslavska & Thormann, 2017). Assim, podem ocorrer desde as isoformas assialotransferrina até à octassialotransferrina, com pontos isoelétricos que variam entre 5 e 6. Consoante o número de ramos, conseguimos ter uma separação das diferentes isoformas da TF por focagem isoelétrica (IEF) (Caslavska & Thormann, 2017).

A transferrina normal no plasma contém as duas cadeias de N-glicanos com dois resíduos de ácido siálico terminais cada, sendo que a IEF Tf vai apresentar como isoforma maioritária a tetrasialo transferrina (Van Scherpenzeel et al., 2016). Quando estamos perante um perfil tipo 1 podemos observar uma diminuição da isoforma tetrasialotransferrina e um aumento da assialo- e disialotransferrina. Quando temos um aumento adicional da mono- e trisialotransferrina estamos perante um perfil tipo 2 (Van Scherpenzeel et al., 2016). Abordaremos em mais detalhe no tópico de diagnóstico.

1.1. Defeitos na N-glicosilação

1.1.1. PMM2-CDG

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

No PMM2-CDG há deficiência de fosfomanomutase (PMM)2 e é uma deficiência citosólica no segundo passo da via da manose, que transforma a manose-6-fosfato em manose-1-fosfato, que normalmente leva à síntese de guanosina difosfato (GDP)-manose (Monin et al., 2014). Este açúcar é dador de manoses usado no RE para a síntese do precursor oligossacárido dolicol-pirofosfato. A deficiência na GDP-manose causa a hipoglicosilação de diversas glicoproteínas, incluindo proteínas séricas, enzimas lisossomais e glicoproteínas da membrana (Monin et al., 2014).

O PMM2-CDG é o subtipo de CDG mais comum (mais de 800 doentes conhecidos por todo o mundo)(Monin et al., 2014) e apresenta diversas manifestações clínicas.

Em todos os doentes há envolvimento do sistema neurológico e a maioria dos outros órgãos está envolvida de forma variável (Monin et al., 2014). As manifestações clínicas incluem: estrabismo, movimentos anormais dos olhos, hipotonia axial, atraso psicomotor, ataxia e hiporeflexia. Depois da infância, os sintomas incluem retinite pigmentosa, muitas vezes episódios “stroke-like” (episódios transitórios de várias combinações de queda, perda de consciência, hemiplegia, perda de visão, muitas vezes precedido de febre), e muitas vezes epilepsia. Durante o(s) primeiro(s) ano(s) de vida, há uma variedade de problemas alimentares como anorexia, vômitos, diarreia, o que pode levar a um grande atraso de crescimento (Monin et al., 2014). Outras características são dismorfismo variável (orelhas hipoplásticas/displásticas, distribuição anormal de tecidos adiposo subcutâneo), hepatomegalia, anomalias esqueléticas e hipogonadismo. Algumas crianças desenvolvem derrames no pericárdio e/ou cardiomiopatia (Monin et al., 2014). Verifica-se uma elevada mortalidade nos primeiros anos de vida devido ao envolvimento de órgãos vitais ou aparecimento de infeções severas (Monin et al., 2014). Existem doentes com um fenótipo muito suave (sem dismorfia e atraso psicomotor ligeiro). (Monin et al., 2014)

O diagnóstico de PMM2-CDG é feito pela focagem isoelétrica da transferrina (IEF Tf) no soro, do qual se obtém um perfil tipo I, caso seja positivo. Para além do perfil de IEF Tf anormal, outros achados laboratoriais como o aumento das transaminases no soro, hipoalbuminémia, hipocolesterolémia e proteinúria tubular são também informações adicionais para o diagnóstico. O diagnóstico é confirmado caso haja uma diminuição da atividade da enzima PMM em leucócitos ou fibroblastos. O diagnóstico pré-natal é possível pela análise enzimática em amniócitos ou células coriônicas. Esta análise deve ser combinada com a análise da mutação do gene *PMM2* (Van Scherpenzeel et al., 2016).

I.1.2. ALG6-CDG

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

Na ALG6-CDG ocorre alteração do gene que codifica a glucosiltransferase I. A deficiência desta enzima causa um defeito na incorporação da primeira de três glucoses no $\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ dolicol-ligado intermediário no RE. (Jaeken, 2013)

Este é o segundo defeito da N-glicosilação mais comum com, pelo menos, 54 doentes identificados (Jaeken, Lefeber, & Matthijs, 2015).

Os doentes apresentam hipotonia, estrabismo, convulsões, mas o atraso do desenvolvimento psicomotor é menor e, normalmente, têm problemas de alimentação (Jaeken et al., 2015). Uma minoria dos doentes apresenta severos problemas neurogastrointestinais (Jaeken et al., 2015).

Para o diagnóstico é feita, primeiramente, a IEF Tf no soro, que nos dá um perfil tipo I. De seguida, é feito em fibroblastos o estudo da incorporação dos oligossacarídeos ao dolicol e revelam uma acumulação do glicano intermediário $\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$. De realçar que algumas glicoproteínas têm níveis anormalmente baixos (particularmente o factor XI, os inibidores da coagulação antitrombina (AT), a proteína C e proteína S). O diagnóstico é posteriormente confirmado com a análise das mutações no gene *ALG6*. (Jaeken et al., 2015).

1.1.3. ALG8-CDG

O ALG8-CDG apresenta deficiência da glucosiltransferase II, que é a enzima que liga o segundo resíduo de Glc aos glicanos de Dol-PP no ER (Höck et al., 2015).

A clínica deste subtipo de CDG é caracterizada por uma forma severa com dismorfismo e falência multiorgânica resultando em morte precoce, e um fenótipo mais suave com hepatomegalia, com perda de proteínas enteropáticas, hipotonia muscular, trombocitopenia, edema e problemas cardiorespiratórios (Höck et al., 2015). Nos doentes descritos por Höck havia um envolvimento do sistema nervoso central proeminente (macrocrânia, atraso psicomotor, convulsões e leucoencefalopatia difusa) e ainda doença renal e enterohepática. Alguns doentes apresentavam também cataratas. (Höck et al., 2015)

O diagnóstico bioquímico é feito por IEF Tf no soro e o perfil é tipo I. Na análise do perfil dos oligossacarídeos ligados aos lípidos (LLO) nos fibroblastos é observada uma acumulação de Dolicol pirofosfato $\text{Glc}_1\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$. A confirmação é feita através da sequenciação do gene *ALG8*. (Höck et al., 2015)

I.1.4. ALGI-CDG

O gene *ALGI* codifica a enzima β 1,4-manosiltransferase, que é responsável pela incorporação do primeiro de 9 resíduos de manose ao oligossacarídeo ligado ao dolicol que é necessário para que ocorra a N-glicosilação (Ng et al., 2016).

São conhecidos 57 doentes com ALGI-CDG (Ng et al., 2016). O fenótipo clínico é multissistémico de gravidade variável, sendo que todos os doentes apresentam atraso de desenvolvimento. A maioria apresenta hipotonia, convulsões/epilepsia e microcefalia, sendo que alguns ainda apresentam atrofia cerebral ou cerebelar, atraso mental, estrabismo, dismorfismo facial, defeitos hematológicos, problemas gastrointestinais, anomalias esqueléticas e hipoalbuminémia (Ng et al., 2016). Em 44% dos casos ocorreu morte prematura com falha respiratória ou renal e ainda várias infeções acabando em sepsis (Ng et al., 2016).

Para o diagnóstico foi realizada IEF Tf do soro, que deu normal na maioria dos doentes (Ng et al., 2016). Os doentes diagnosticados anteriormente apresentaram uma acumulação de GlcNAc₂-PP-dolicol nos fibroblastos (Jaeken, 2013). Como esta característica não era comum em todos os casos conhecidos, os investigadores procuraram então um marcador comum e descobriram um novo biomarcador, uma proteína ligada ao xeno-tretrasacarídeo (NeuAc-Gal-GlcNAc₂), que era comum aos 29 doentes estudados (Ng et al., 2016).

I.1.5. ALG9-CDG

No caso do ALG9-CDG o defeito ocorre na enzima α -1,2-manosiltransferase, que catalisa dois passos na biossíntese do precursor de LLO (Tham et al., 2016).

O ALG9-CDG é um dos subtipos de CDG menos reportado (AISubhi et al., 2016). Os primeiros três doentes descritos apresentavam combinações de atraso mental, epilepsia, hipotonia, microcefalia, atrofia cerebral e cerebelar, atraso na mielinização, defeitos cardíacos e rins poliquísticos (Tham et al., 2016). Recentemente, em sete outros doentes, foi também observada displasia esquelética (intermédia a severa) (AISubhi et al., 2016). O fenótipo esquelético severo é designado displasia esquelética “Gillessen-Kaesbach-Nishimura”, que leva à morte intrauterina (Tham et al., 2016). Este fenótipo pertence ao mais severo fenótipo do espectro clínico associado aos défices na N-glicosilação (AISubhi et al., 2016)(Tham et al., 2016).

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

O diagnóstico inicial de ALG9-CDG é realizado através da IEF Tf do soro, da qual obtemos um perfil tipo I. O perfil de LLO revelou uma acumulação dos precursores $\text{Man}_6\text{GlcNAc}_2\text{-PP-dolicol}$ e $\text{Man}_8\text{GlcNAc}_2\text{-PP-dolicol}$ (Tham et al., 2016), Para confirmação do diagnóstico é feita a sequenciação do gene *ALG9* (AlSubhi et al., 2016).

I.1.6. DPAGTI-CDG

No DPAGTI-CDG ocorre uma deficiência no UDP.GlcNAc:dolicol fosfato GlcNAc-1-fosfato transferase, que é um dos primeiros passos na biossíntese oligossacarídeo ligado ao dolicol (Jaeken, 2013). A deficiência desta enzima leva à hipoglicosilação dos recetores de acetilcolina nos terminais dos neurónios (Yuste-Checa et al., 2017).

A forma mais severa da doença tem uma apresentação multissistémica, com atraso psicomotor moderado a severo, microcefalia, hipotonia e epilepsia (Jaeken, 2013). A doença tem também uma outra apresentação, como Síndrome Congénito Miasténico, que se caracteriza por fraqueza muscular com poucos ou nenhuns sintomas craniobulbares e é devido ao mau funcionamento dos receptores de acetilcolina e é transmitida de forma autossómica recessiva (Yuste-Checa et al., 2017).

Há um tratamento parcial para o Síndrome Congénito Miasténico com inibidores da colinesterase, que ajuda na redução da sintomatologia (Jaeken & Péanne, 2017).

I.1.7. MPI-CDG

O gene MPI codifica a enzima manose-6-fosfato isomerase, que é responsável pela conversão reversível de manose-6-fosfato em frutose-6-fosfato (Sparks & Krasnewich, 2017).

Um defeito nesta enzima leva, normalmente, a manifestações clínicas como vômitos cíclicos, hipoglicemia profunda, falha no crescimento, fibroses hepáticas e perda de proteínas entereopáticas (Sparks & Krasnewich, 2017). Ocasionalmente pode estar associada a problemas de coagulação sem envolvimento neuronal (Sparks & Krasnewich, 2017). Um caso de uma doente adulta com MPI-CDG assintomática, e com marcadores de consumo de álcool elevados no sangue, levou a concluir que este CDG pode estar subdiagnosticado (Helander, Jaeken, Matthijs, & Eggertsen, 2014).

Este CDG é dos únicos com um tratamento efetivo através de suplementação oral com manose ou transplante de fígado (Wong et al., 2017).

I.1.8. ALG14-CDG

O gene *ALG14* codifica uma proteína membrana envolvida nos primeiros passos da N-Glicosilação (Cossins et al., 2013). A ausência desta proteína faz com que haja uma baixa expressão do receptor de acetilcolina (Cossins et al., 2013).

Recentemente foi diagnosticado um novo fenótipo de ALG14-CDG (Schorling et al., 2017). Houve 5 casos estudados, os quais acabaram todos em morte precoce com neurodegeneração com características miasténicas e miopáticas. Os sinais começaram ainda durante a gravidez, com redução dos movimentos fetais em três dos cinco casos diagnosticados. Todos apresentavam hipotonia, 4 casos com contraturas dos joelhos e cotovelos, e um deles também dos tornozelos.

A Ressonância Magnética apresentou um atraso na mielinização e atrofia (Schorling et al., 2017). Foi feita a sequenciação do gene *ALG14* para confirmação do diagnóstico (Schorling et al., 2017).

O tratamento é feito com inibidores da colinesterase para o tratamento do síndrome miasténico (Jaeken & Péanne, 2017).

1.2. Defeitos na O-glicosilação

1.2.1. B4GALT7-CDG

No caso do B4GALT7-CDG, temos um defeito na enzima β -1,4-galactosiltransferase 7 que vai interromper a região de ligação ao trisacarrídeo dos glicosaminoglicanos, especialmente na ligação da primeira galactose à xilose (Salter et al., 2016).

Foram descobertos doentes com um fenótipo de envelhecimento prematuro da pele, baixa estatura, extremidades ósseas arredondadas e hiperflexibilidade articular (Salter et al., 2016).

O diagnóstico é feito por focagem isoelétrica da Apolipoproteína C-III (Apo C-III) seguido de sequenciação do gene *B4GALT7* (Van Scherpenzeel et al., 2016).

1.2.2. EXT1/EXT2-CDG

O complexo EXT1/EXT2 tem uma dupla função enzimática (glucuroniltransferase/N-acetilglucosaminiltransferase) na síntese de sulfato de heparano, consistindo de um ligando

do tetrassacarídeo ao glicano seguido pela repetição de ácido glucurónico/dissacáridos de N-acetilglucosamina (Farhan et al., 2015).

Uma deficiência em ambas as proteínas causa exostoses cartilaginosas que é transmitida de forma autossômica dominante (Farhan et al., 2015).

O novo fenótipo de EXT2-CDG é totalmente diferente, é um síndrome de convulsões-escoliose-macrocefalia com outras características variáveis como disfunção do intestino, proteinúria, entre outras coisas, mas sem exostoses. Não é uma doença autossômica dominante, mas sim recessiva (Farhan et al., 2015).

O diagnóstico foi feito por sequenciação de todo o exoma (Farhan et al., 2015)

1.2.3. XYLT1-CDG

O XYLT1 é o responsável pelo primeiro passo da síntese do o-xilosilglicano, (Silveira, Leal, & Cavalcanti, 2016).

XYLT1-CDG já foi encontrado em 18 doentes, de 15 famílias, com “Desbuquois dysplasia type 2” (Schreml et al., 2014). Esta síndrome é caracterizada por baixa estatura, atraso mental, um rosto redondo e liso, articulações demasiado flexíveis, o fémur proximal com aparência de chave sueca. Tem ainda como características menos frequentes a obesidade, olhos proeminentes, miopia, fenda no palato e ponte nasal com uma depressão. (Guo et al., 2016; Lee et al., 2017; Silveira et al., 2016).

1.2.4. XYLT2-CDG

O gene *XYLT2* codifica a enzima responsável pela transferência de uma xilose da UDP-Xyl para o resíduo de serina (Taylan et al., 2016). Neste CDG temos um defeito na montagem do glicano na retina, no ouvido interno, músculo do coração e osso. (Taylan et al., 2016)

Houve 7 doentes diagnosticados entre 2015 e 2017 (Munns et al., 2015; Taylan et al., 2016) com um fenótipo caracterizado por uma fragilidade óssea (causando compressão vertebral e outras fracturas), defeitos nos olhos (cataratas e deslocamento da retina em alguns), deficiência auditiva bilateral sensorineural e, em alguns casos, atraso mental e problemas cardiovasculares (Taylan et al., 2016).

O diagnóstico começa sempre por uma suspeita de CDG pelo fenótipo característico do doente seguido pela sequenciação do gene *XYLT2* (Taylan et al., 2016).

Alguns doentes receberam tratamento com bifosfonato antes do estudo que revelou não só melhorar a densidade mineral óssea, como também ajudou a dar nova forma às fraturas de compressão e ajudou a reduzir o número de fraturas (Taylan et al., 2016). A fragilidade do osso respondeu positivamente à terapia com pamidronato em alguns doentes (Taylan et al., 2016).

1.2.5. POGLUTI-CDG

O gene *POGLUT1* codifica a proteína O-glucosiltransferase I (Basmanav et al., 2014).

No caso do POGLUTI-CDG foram encontrados dois fenótipos completamente diferentes. Um dos fenótipos é uma doença de pele de transmissão autossómica dominante chamada doença Dowling-Degos 4. Esta dermatose é caracterizada por uma progressiva hiperpigmentação reticular pós-púbere e pequenas pápulas hiperqueratóticas castanho escuras que podem causar prurido e/ou sensação de queimadura (Basmanav et al., 2014). O outro fenótipo é autossómico recessivo, foi diagnosticado já na fase adulta e manifesta-se por distrofia muscular com fraqueza nos membros inferiores proximais, e sem problemas de pele. A doença é progressiva e limitante. Este é um dos casos raros de um CDG que só afeta um órgão. Não há ainda explicação pela diferença encontrada no fenótipo, mas é possível que seja um efeito não enzimático na função do POGLUT1 na apresentação muscular (Servián-Morilla et al., 2016).

O diagnóstico foi realizado com coloração muscular com anticorpos dirigidos para a proteína em doentes com um fenótipo sugestivo de POGLUT1-CDG. Para confirmação foi usada a sequenciação do gene *POGLUT1* (Servián-Morilla et al., 2016).

1.3. Defeito na síntese do O-manosilglicano

A estrutura do o-manosilglicano é construído pela ação sequencial das seguintes enzimas: POMT1/2, POMGNT1, B3GALNT2, POMK, ISPD, FKTN, FKRP, TMEM5, B4GAT1, LARGE. Até agora, ainda só não foi encontrada uma deficiência na B4GAT1. (Jaeken & Péanne, 2017)

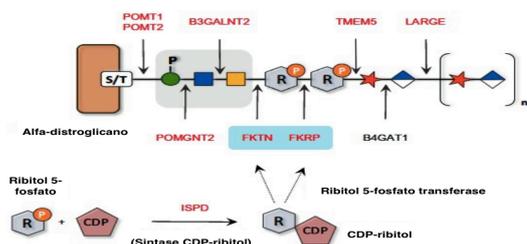


Figura 5: Defeitos na síntese do O-manosilglicano. O O-manosilglicano é um tipo de O-glicano em que o terminal de manose está ligado à proteína através de um resíduo de serina ou treonina. Um defeito na construção do

O-manosilglicano é uma causa de α -distroglicanopatias, causadas pela glicosilação aberrante do alfa-distroglicano. Os CDG conhecidos estão indicados a vermelho, Adaptado de (Jaeken & Péanne, 2017)

1.3.1. ISPD-CDG

A sintase de isoprenoide (ISPD) sintetiza a CDP-ribitol, que está normalmente presente nos músculos (Gerin et al., 2016). Uma vez que esta proteína citoplasmática tem um domínio de sintase isoprenoide característico de transferases de açúcares difosfatados, já se pensava que estaria envolvida na glicosilação do α -distroglicano (Gerin et al., 2016; Kanagawa et al., 2016).

Uma deficiência na ISPD foi reportada como causa de α -distroglicanopatias, doenças que afetam o cérebro e músculos. As mutações no ISPD são frequentemente associadas com anormalias vasculares cerebrais. As manifestações clínicas têm um espetro muito alargado, desde distrofia muscular sem sintomas no sistema nervoso central, até distrofia muscular congénita com severo envolvimento cerebral e dos olhos (Gerin et al., 2016).

Um dos achados laboratoriais deste CDG é que a glicosilação do α -distroglicano nos fibroblastos está diminuída (Gerin et al., 2016).

No meio de cultura, a adição de ribitol faz com que a glicosilação seja parcialmente reposta, sugerindo que a suplementação com ribitol deve ser avaliada com terapia para estes doentes (Gerin et al., 2016).

1.3.2. FKTN-CDG

A fukutina (FKTN) é, juntamente com a proteína ligada à fukutina (FKRP), uma possível glicosiltransferase porque transporta um domínio LicD, que é frequentemente encontrado em enzimas bacterianas que usam conjugados CDP como substratos (Gerin et al., 2016). A FKTN pode transferir um grupo ribitol fosfato do CDP-ribitol para o o-manosilglicanos de α -distroglicano (Gerin et al., 2016).

Uma deficiência na FKTN é uma causa conhecida de distrofia muscular congénita e distroglicanopatia com anomalias no cérebro e olhos, tem também uma forma intermédia sem atraso mental e, ainda, uma forma com distrofia muscular. (Gerin et al., 2016; Kanagawa et al., 2016).

1.3.3. FKRP-CDG

Tal como descrito anteriormente, a FKR_P atua junto com a FKT_N para formar uma possível glicosiltransferase (Gerin et al., 2016).

FKR_P-CDG é conhecido pelas suas semelhanças fenotípicas ao FKT_N-CDG, pelo motivo já mencionado (Gerin et al., 2016).

1.3.4. TMEM5-CDG

O gene *TMEM5* codifica um ribitol β 1,4-xilosiltransferase, que tem um domínio de glicosiltransferase, transferindo xilose para o ribitol 5-fosfato no o-manosilglicano do α -dístroglicano, estando envolvido na sua glicosilação. (Manya et al., 2016).

A deficiência no gene *TMEM5* foi descrita como causa de α -dístroglicanopatias, doenças autossómicas recessivas caracterizadas por défices cerebrais, oculares e musculares. Estas mutações são frequentemente associadas com disgénese gonadal e defeitos no tubo neural. (Manya et al., 2016).

1.4. Defeitos noutras vias de glicosilação

1.4.1. DHDDS-CDG

Uma das enzimas do ciclo do dolicol é a dehidrodolicol difosfato sintase (DHDDS) que é responsável por um dos primeiros passos da biossíntese do dolicol. No caso do DHDDS-CDG a síntese de oligossacarídeo ligado ao dolicol (DLO) está interrompida, não havendo N-glicosilação (Sabry et al., 2016).

Até recentemente, os casos conhecidos tinham um fenótipo característico, não multissistémico, de retinite pigmentosa (Zelinger et al., 2011; Züchner et al., 2011). Em 2016 foi descrito um doente com um crescimento intrauterino deficiente, hipotonia axial, hipertonia periférica, epilepsia, micropénis, hepatomegalia e falha renal. Morreu com oito meses, durante um ataque epilético. Não pode ser excluída a hipótese da presença de variantes heterozigóticas noutros genes de glicosilação (*ALG6*, *ALG8*, *ALG9*, *DDOST*, *MPDUI* e *STT3A*) que tenham tido influência na severidade da doença (Sabry et al., 2016).

1.4.2. CAD-CDG

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

A CAD é uma enzima citoplasmática que catalisa os primeiros três passos da biossíntese da pirimidina “de novo”, que é necessária para a formação de uridina monofosfato que é indispensável para o processo de glicosilação (Koch et al., 2017).

O CAD-CDG foi identificado em doentes com um fenótipo de atraso mental, epilepsia não tratável, dificuldade de deglutição e estado de consciência mínimo (Koch et al., 2017).

Alguns achados laboratoriais são anemia e ácido orótico na urina (Koch et al., 2017). A concentração dos açúcares UTP, UDP e UDP-ativado estavam diminuídas nos fibroblastos, mas a N e O-glicosilação, testada num dos doentes, não relevou alterações significativas. O diagnóstico foi então feito por sequenciação de todo o exoma (Koch et al., 2017; Ng et al., 2015).

Foi testado em duas crianças com CAD-CDG a suplementação com uridina oral, que teve um efeito clínico muito significativo incluindo a paragem imediata das convulsões (Ng et al., 2015)(Koch et al., 2017).

1.4.3. GFPTI-CDG

O gene *GFPT1* codifica a enzima glutamina-frutose-6-fosfato transaminase I. Quer a N-glicosilação como a O-glicosilação estão comprometidas pois esta enzima é a primeira para a biossíntese da GalNAc, que é o substrato essencial para a glicosilação (Saudubray et al., 2016).

GFPTI-CDG está associado a um síndrome miasténico congénito que foi descrito em, pelo menos, 46 doentes (Saudubray et al., 2016). A maioria deles apresenta agregados tubulares no retículo sarcoplasmático nas fibras tipo 2. Há um aumento ligeiro e inconstante da creatina cinase no soro. A transmissão é autossómica recessiva (Saudubray et al., 2016).

Já existe um tratamento parcial para este tipo de CDG, com inibidores da colinesterase. Estes vão ajudar a atenuar o síndrome miasténico (Jaeken & Péanne, 2017),

1.4.4. GNE-CDG

No caso do GNE-CDG, o gene mutado codifica a enzima uridina difosfo-N-acetilglucosamina epimerase/N-actilmanosamina cinase (Saudubray et al., 2016). Esta enzima catalisa os primeiros dois passos da biossíntese do ácido siálico (Saudubray et al., 2016).

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

O fenótipo começa a aparecer normalmente a partir dos 20 anos de idade com fraqueza muscular que vai evoluindo nos próximos 10-20 anos. É uma doença autossômica recessiva (Saudubray et al., 2016).

Para o GNE-CDG há evidência que a suplementação com ácido siálico pode estabilizar a força muscular (Argov et al., 2016)

1.4.5. PGMI-CDG

A fosfoglucomutase I (PGMI) é uma enzima essencial na glicogênese e é importante para a glicólise durante o período de jejum (Saudubray et al., 2016).

Este PGMI-CDG tem dois fenótipos característicos: glicogenose miopática (tipo XIV), e outra apresentação multissistêmica incluindo deficiência no crescimento, hipoglicemia, malformações (como úvula bífida, fenda no palato), e envolvimento hepático, cardíaco e endócrino (Saudubray et al., 2016). Contrariamente à maioria dos CDG, este não apresenta envolvimento neurológico (a não ser que seja como consequência de trombose cerebral rara). Este é o único CDG primário que mostra defeito quer na montagem quer no processamento de N-glicanos (CDG-I/II) (Saudubray et al., 2016).

O diagnóstico é feito com a IEF Tf, do qual obtemos um perfil tipo 2 e a espectrometria de massa da transferrina no soro apresenta um déficit da galactosilação (Saudubray et al., 2016).

A suplementação com galactose oral melhora a função hepática e anomalias endócrinas e reduz os episódios hipoglicêmicos (Wong et al., 2017),

1.4.6. PGM3-CDG

Na PGM3-CDG, reportado em 24 doentes, ocorre um defeito na enzima fosfoglucomutase 3, que é responsável pela síntese de um dador de açúcar UDP-GlcNAc que é um nucleótido crítico para muitas vias de glicosilação (Stray-Pedersen et al., 2014).

O espectro das características clínicas é muito alargado abrangendo sintomas alérgicos, autoimunes, dermatológicos, infecciosos, neurológicos, esqueléticos, pulmonares e renais sendo que, em alguns doentes, o fenótipo é limitado a uma imunodeficiência. Os achados laboratoriais maioritários são leucopenia e, na maioria dos doentes, IgE aumentada no soro (Lundin et al., 2015; Sassi et al., 2014; Zhang et al., 2014).

Surpreendentemente, a IEF da transferrina no soro e a apoC-III estavam normais. O diagnóstico foi realizado por sequenciação de todo o exoma (Stray-Pedersen et al., 2014) .

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

O tratamento deste CDG passa pelo transplante de células germinativas hepatopoiéticas para corrigir a neutropenia e linfopenia (Stray-Pedersen et al., 2014).

1.4.7. SLC35A2-CDG

O SLC35A2-CDG consiste numa mutação na enzima uridina difosfato galactose (UDP-galactose) ligada ao cromossoma X. Esta enzima é a dadora de resíduos de galactose nas reações de glicosilação (Dörre et al., 2015).

Doentes diagnosticados com SLC35A2-CDG apresentam atraso no desenvolvimento, hipotonia, convulsões, malformações cerebrais e ataxia (Dörre et al., 2015).

O perfil de IEF da Tf do soro é um perfil tipo 2. O diagnóstico foi confirmado por NGS panel (Dörre et al., 2015).

A suplementação com galactose oral (até 3,75 g/kg por dia) pode melhorar, ou mesmo, corrigir a glicosilação (Dörre et al., 2015).

1.4.8. SLC35C1-CDG

O gene deficiente é o *SLC35C1* que codifica um transportador GDP-fucose desde o citoplasma, onde é sintetizado, até ao lúmen do Golgi, onde é usado para adicionar resíduos de fucose aos glicoconjugados (Monticelli et al., 2016)

O SLC35C1-CDG é também conhecido por uma deficiência na adesão dos leucócitos do tipo II (LAD2). Na maioria dos doentes, o fenótipo é caracterizado por baixa estatura, dismorfismo, envolvimento neurológico, bem como infeções bacterianas recorrentes associadas a uma recorrente, não usual, contagem de neutrófilos alta. As infeções podem ser locais ou generalizadas e tendem a diminuir depois dos primeiros anos. Nestes casos, os granulócitos não podem migrar eficientemente para os sítios da infeção, que é manifestado por leucocitose marcada e uma incapacidade de gerar pus (Monticelli et al., 2016).

A suplementação oral com fucose teve sucesso em alguns doentes pois a resposta depende do tipo de mutação. Como esperado, a fucose melhorou a contagem de neutrófilos e diminuiu as infeções recorrentes (Monticelli et al., 2016).

1.4.9. ATP6API-CDG

Onze doentes do sexo masculino foram reportados com um defeito no gene *ATP6API* ligado ao X, codificando a subunidade Ac45 do complexo V-ATPase importante para a acidificação e tráfego intracelular dos compartimentos (E. J. R. Jansen et al., 2016).

O fenótipo combina hepatopatia com anormalidades imunes. Os seis doentes com mutação p.E346K em hemizigotia apresentaram um fenótipo mais severo, incluindo epilepsia, atraso intelectual moderado, comportamento anormal e morte precoce devido a uma falha hepática (E. J. R. Jansen et al., 2016).

Para além das transaminases no soro estarem altas, também há leucopenia, um aumento de fosfatase alcalina bem como diminuição de cobre no soro e da ceruloplasmina. Este CDG é também um defeito de N- e O-glicosilação combinada (E. J. R. Jansen et al., 2016).

1.4.10. ATP6VIA-CDG

ATP6VIA codifica a subunidade A do domínio VI do complexo heteromultimérico V-ATPase (Van Damme et al., 2017).

Através da sequenciação do exoma completo foram identificadas variantes bialélicas em três doentes, de três famílias diferentes, com *cutis laxa* de moderada a severa, dismorfismo facial e envolvimento cardiopulmonar. Todos os doentes têm um fenótipo particular: uma cara tipo máscara com uma testa curta, hipertelorismo, pestanas inferiores viradas para dentro, orelhas baixas, nariz pontiagudo e um queixo pequeno e pontiagudo. Os doentes apresentavam alterações cardíacas como defeitos no septo, dilatação da aorta, cardiomiopatia hipertrófica e ataque cardíaco (Van Damme et al., 2017). Dois doentes revelaram sintomas neurológicos (epilepsia e deficiência na fala) (Van Damme et al., 2017).

A N-glicosilação das proteínas estava severamente afectada (Van Damme et al., 2017).

1.4.11. ATP6VIEI-CDG

A subunidade EI do domínio VI do complexo heteromultimérico V-ATPase é codificado pelo gene ATP6VIEI (Van Damme et al., 2017).

Através da sequenciação do exoma foram identificadas variantes bialélicas em quatro doentes de duas famílias (Van Damme et al., 2017). Os doentes têm um fenótipo parecido com o ponto anterior mas, neste caso, a *cutis laxa* é caracterizado por rugas generalizadas na pele e que não melhoram com o tempo. Não há envolvimento neurológico (Van Damme et al., 2017).

Estes doentes têm uma focagem isoelétrica da transferrina com um perfil tipo 2. (Van Damme et al., 2017).

1.4.12. CCDC115-CDG

Oito doentes apresentaram uma deficiência no *coiled-coil domain containing 115*, que está maioritariamente localizado no compartimento intermediário ER-Golgi (ERGIC) e parece ter um papel na homeostase do Complexo de Golgi (J. C. Jansen et al., 2016).

Está associado à doença de fígado e com algum envolvimento cerebral variável. As transaminases séricas, fosfatase alcalina e o colesterol LDL estavam aumentados e a ceruloplasmina sérica diminuída (J. C. Jansen et al., 2016).

CCDC115-CDG é uma doença combinada de N- e mucina tipo O-glicosilação: a focagem isoelétrica da transferrina no soro mostra um perfil tipo 2 e a focagem isoelétrica da apo C-III hiposialização. Na análise dos glicanos da transferrina por ESI-TOF foi observado que existe que há hiposialização e hipogalactosilação (J. C. Jansen et al., 2016).

1.4.13. SLC39A8-CDG

SLC39A8 (também conhecido por ZIP8) é um transportador de membrana catiónico divalente importante para a entrada de manganésio (Mn), zinco e outros catiões nas células (Park et al., 2015).

Variantes deste transportador foram descritos em doentes com fenótipos desde sinostose cranial e nanismo desproporcional, estrabismo, atrofia cerebelar, hipotonia, deficiência intelectual e infeções recorrentes (Boycott et al., 2015; Park et al., 2015). Na sua forma severa, esta doença mostra uma grande similaridade com a deficiência do transportador da UDP-galactose (SLC35A2-CDG) (Jaeken & Péanne, 2017).

No diagnóstico, encontraram os níveis de Mn reduzidos no sangue e havia hipogalactosilação. A IEF da transferrina apresentava um perfil tipo 2, devido a uma disfunção na enzima β -1,4-galactosiltransferase Mn-dependente (Park et al., 2015).

A suplementação com galactose oral podem melhorar, ou mesmo, corrigir a glicosilação (Park et al., 2015).

1.4.14. TRAPPC11-CDG

Dentro dos CDG que têm o seu defeito localizado no transporte do retículo endoplasmático para o Golgi, foi recentemente encontrada um defeito no TRAPPC11,

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

subunidade do complexo TRAP III, que está implicado no transporte do ER para o ERGIC e também no transporte vesicular para o Golgi (Matalonga et al., 2017).

O doente descrito por Matalonga teve um nascimento prematuro e apresentava hipotonia, convulsões, dismorfismo (incluindo microcefalia), colestase, nefropatia e osteopatia, vindo a falecer aos 5 meses (Matalonga et al., 2017).

Anteriormente, as mutações no gene *TRAPPC11* foram descritas em 3 famílias (oito doentes) com distrofia muscular, miopatia, distúrbios de movimento e atraso intelectual (Bögershausen et al., 2013), num outro doente com distrofia congénita muscular, fígado gordo e cataratas (Liang et al., 2015) e em quatro doentes de duas famílias não relacionadas com síndrome tipo triplo A (Koehler et al., 2017).

O diagnóstico foi feito por sequenciação de todo o exoma (Matalonga et al., 2017). Foi considerado um CDG com defeito na N- e O-glicosilação pois a IEF Tf apresenta um perfil compatível com um perfil tipo 2 e o perfil de glicosilação da Apo C-III demonstra um aumento das formas não sialisadas (Koehler et al., 2017).

I.5. Defeitos na glicosilação de lípidos e na síntese do GPI

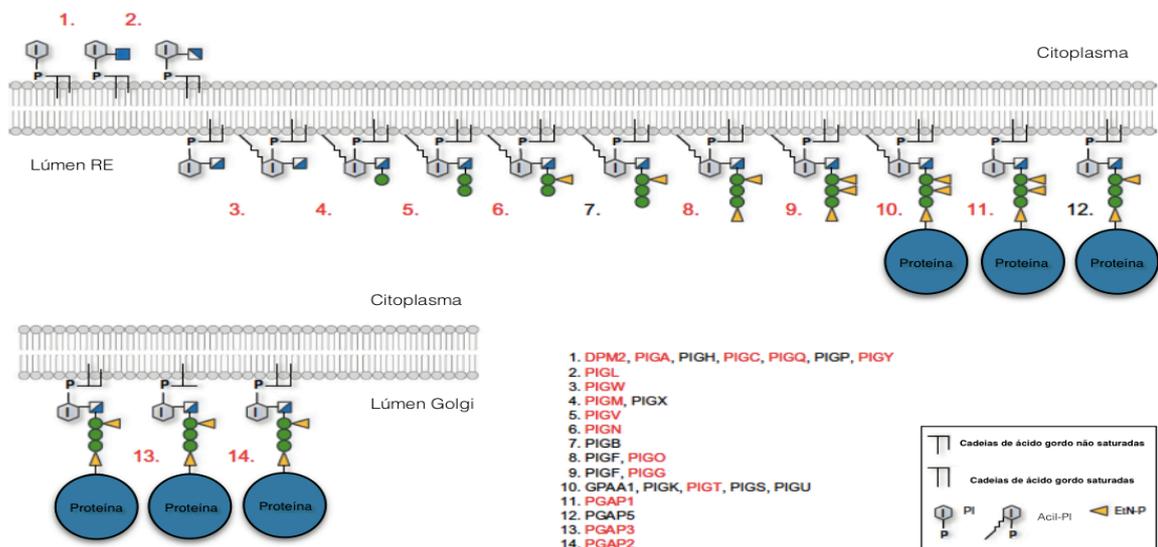


Figura 6: Defeitos conhecidos na síntese da âncora do glicose-fosfato inositol (GPI). A biossíntese do GPI é iniciada no RE através da primeira ligação na membrana de um fosfatidilinositol. Os genes suscetíveis de terem uma mutação causal associados a CDGs estão destacados a vermelho. Adaptado de (Jaeken & Péanne, 2017)

I.5.1. DOLK-CDG

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

A cinase do dolicol catalisa o último passo na síntese do dolicol fosfato, que mais tarde, é essencial para o lípido transportador de glicosil para a O- e C-manosilação, para a N-glicosilação e para a biossíntese de âncoras de GPI no ER (Rush et al., 2017).

Estão descritos 18 doentes DOLK-CDG (Monticelli et al., 2016), que apresentam um fenótipo clínico variável com envolvimento cardíaco, neurológico, dismorfismo e alterações cutâneas. Os primeiros quatro doentes diagnosticados morreram na infância, com 6 meses de idade, de uma infecção pulmonar severa, causada por um vírus sincicial respiratório. Em 9 doentes, de 3 famílias, foi reportado atingimento cardíaco, desde uma dilatação até enfarte do miocárdio. A maior parte dos doentes sofreu de infecções com neutropenia severa e anemia microcítica, sugerindo uma diminuição na produção e diferenciação de leucócitos (Monticelli et al., 2016).

O diagnóstico foi feito por sequenciação de todo o exoma (Rush et al., 2017).

O único tratamento para este tipo de CDG, que ajuda no controlo da sintomatologia, é o transplante de coração (Jaeken & Péanne, 2017).

I.5.2. PIGW-CDG

PIG-W é uma inositol aciltransferase que atua no terceiro passo da biossíntese de GPI. Este passo é crítico para a ligação de etanolamina da ponte à proteína à terceira manose da âncora GPI (Hogrebe et al., 2016).

Foram descritos três doentes com este tipo CDG. O primeiro tinha um atraso no desenvolvimento grave, uma ponte nasal larga e epilepsia (síndrome de West). A fosfatase alcalina do soro estava aumentada. A citometria de fluxo dos granulócitos do sangue revelou expressão reduzida das proteínas de âncora do GPI (Chiyonobu, Inoue, Morimoto, Kinoshita, & Murakami, 2014). Os outros dois casos, de outra família, apresentavam uma fosfatase alcalina no soro normal e umas mudanças subtis na citometria de fluxo das proteínas âncora do GPI (Hogrebe et al., 2016).

I.5.3. PIGC-CDG

PIG-C é uma das sete unidades do complexo proteico que transfere a N-acetilglucosamina para o inositol da âncora GPI. Quando há mutação, há defeito na síntese da âncora de GPI (Edvardson et al., 2017).

Três doentes apresentaram um atraso de desenvolvimento global, um grave atraso intelectual e uma epilepsia que responde a tratamento. Havia um decréscimo grande na expressão das proteínas âncora GPI na superfície dos granulócitos (Edvardson et al., 2017).

I.5.4. PIGG-CDG

PIG-G modifica a segunda manose, de três resíduos de manose, com etanolamina fosfato, que é removida logo depois do GPI ser ancorado à proteína (Makrythanasis et al., 2016).

As variantes patogénicas do *PIGG* foram encontradas em cinco doentes que desenvolveram convulsões precocemente, atraso intelectual e hipotonia. Contrariamente à maioria das outras deficiências com GPI, as proteínas de superfície do GPI âncora apresentaram níveis normais, bem como estrutura normal (Makrythanasis et al., 2016).

I.5.5. PIGA-CDG

A *PIGA* é responsável pelo primeiro passo da biossíntese da âncora GPI (Fauth et al., 2016). Alguns doentes com mutações somáticas no *PIGA* (com hemoglobinúria paroxiística noturna) são bem conhecidos, mas as mutações na linha germinal no *PIGA* (ER CDG) só foram descritas recentemente (Fauth et al., 2016).

Os doentes podem ter um fenótipo severo ou menos severo, tendo como pontos comuns espasmos infantis, atraso desenvolvimento psicomotor grave (Tarailo-Graovac et al., 2015). A forma severa mostra também dismorfia facial, múltiplas anomalias no sistema nervoso central, assim como hipotonia, aumento das fosfatases alcalinas no cérebro e envolvimento variável do fígado, rins e coração. Na maioria das vezes é fatal. Na forma menos severa não há dismorfismo facial e não há múltiplas anomalias no sistema nervoso central. Estes doentes apresentam um atraso intelectual e de desenvolvimento moderado, convulsões tratáveis e, no geral, uma esperança média de vida longa. Uma mutação na linha germinativa recorrente foi identificada como causa do síndrome “Simpson-Golabi-Behmel” tipo 2 (Fauth et al., 2016; Tarailo-Graovac et al., 2015).

A associação da hereditariedade ligada ao X com o aumento das as fosfatases alcalinas no soro fazem da forma severa da deficiência do *PIGA* um CDG bem reconhecido (Tarailo-Graovac et al., 2015).

2. Novos mecanismos de CDG

Foi diagnosticado pela primeira vez em 2016 um novo tipo de CDG, envolvendo dois genes: *MAN1B1/SEC23A*. Foi descrito em dois gêmeos, mostrando algumas características de *MAN1B1*-CDG (atraso intelectual moderado, hipotonia, dismorfismo facial, obesidade, macrocefalia e um perfil tipo 2 na IEF Tf) e uma deficiência do *SEC23A* (anomalias nos dentes), e também crescimento anormal. O *SEC23A* é uma proteína COPII, enquanto o *MAN1B1* é uma proteína do Golgi. Não se sabe se uma deficiência de *SEC23A* é um CDG, uma vez que apresenta um perfil de focagem isoelétrica normal (Gupta et al., 2016).

Em 2016, um novo mecanismo de CDG foi encontrado, uma associação de um defeito genético com um factor adquirido (de la Morena-Barrio et al., 2016). Morena-Barrio e os seus colaboradores encontraram 5 homens adultos com trombose venosa profunda e deficiência de antitrombina (AT), mas sem mutações no gene de AT. Contudo, havia hipoglicosilação de AT e também da Tf e outras glicoproteínas. Uma investigação posterior revelou heterozigotia para o *PMM2*-CDG em 3 doentes, uma variante no transportador de manose codificada pelo *SLC5A9* num doente e uma variação no *ALG6* no outro doente. A hipoglicosilação não foi constante, havendo flutuações ao longo do tempo, e todos os doentes eram alcoólicos moderados a graves. Estamos perante um defeito genético (heterozigotia para um gene de glicosilação) combinado com um factor adquirido (alcoolismo), assim como um novo mecanismo trombofílico. Vários CDG causam deficiência de AT e aumentam o risco de trombose mas este estudo foi o único que explicou que a hipoglicosilação pode explicar a deficiência em AT e a trombose em doentes sem clínica adicional sugestiva de CDG. Assim, em casos de trombose sindrómica, mas também não sindrómica, a hipoglicosilação deve ser investigada, particularmente em adultos (de la Morena-Barrio et al., 2016).

3. Diagnóstico

Os defeitos na N-glicosilação são os tipos de CDG mais estudados (Van Scherpenzeel et al., 2016). Há dois tipos de CDG: CDG-I é caracterizado ausência de ocupação dos locais de glicosilação nas proteínas, havendo falta de N-glicanos completos e CDG-II que é caracterizado por glicanos imaturos, truncados (Van Scherpenzeel et al., 2016).

Para a maioria dos CDG a primeira linha de diagnóstico é feita pela análise da IEF Tf no soro, por HPLC ou por eletroforese capilar (Van Scherpenzeel et al., 2016). Estas

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

técnicas permitem separar as isoformas da transferrina consoante a sua carga, que é determinada pelo número de resíduos de ácido siálico que cada uma das respectivas isoformas contém. A transferrina normal no plasma contém dois locais de N-glicosilação, em resíduos de asparagina, ocupados por estruturas de glicanos com um total de 4 resíduos terminais de ácidos siálico como a espécie dominante, ou seja, apresenta grande quantidade de tetrasialotransferrina e pequenas quantidades de mono-, di-, tri-, penta- e hexasialotransferrinas (Van Scherpenzeel et al., 2016).

Quando há deficiência parcial de ácido siálico vai haver uma mudança na carga negativa, sendo que no caso do CDG-I vamos observar um aumento simultâneo da disialo- e assialotransferrina e uma diminuição da tetrasialotransferrina e no tipo CDG-II há também um aumento das bandas de tri- e/ou da monoasialotransferrina (Van Scherpenzeel et al., 2016). A interpretação de perfis anormais pode ser complicada quando há presença de polimorfismos, que causa a comigração de isoformas anormais de transferrina glicosilada (Van Scherpenzeel et al., 2016). Para que seja confirmado ou excluído um polimorfismo, é necessário o tratamento da transferrina sérica com neuraminidase ou, alternativamente, analisar amostras do plasma dos pais (Van Scherpenzeel et al., 2016). Há também causas secundárias para um perfil anormal de IEF, como por exemplo, o abuso do álcool continuado provoca um perfil CDG-I, a presença de sialidase no plasma, ou doença hepática severa causam um perfil CDG-II (Van Scherpenzeel et al., 2016).

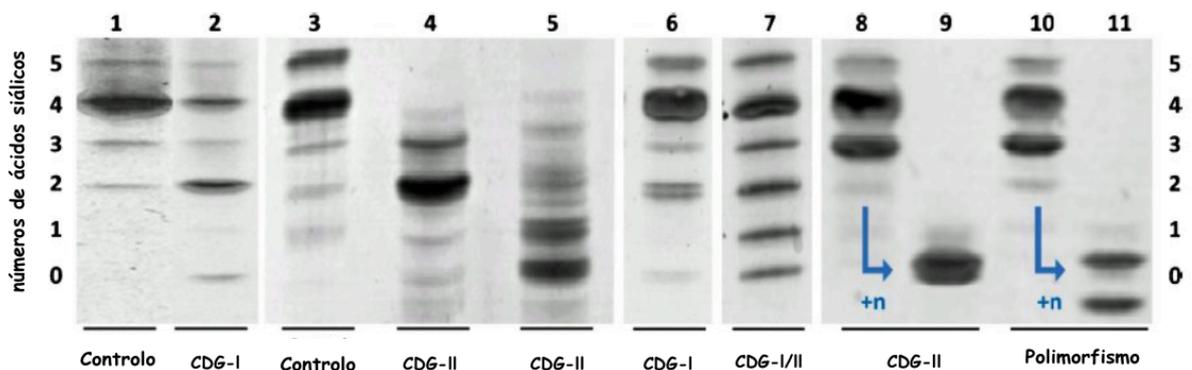


Figura 7: Geles de Focagem Isoeletrica da Transferrina com o número de resíduos terminais de ácido siálico indicados no lado esquerdo e no lado direito (0 a 5). Nas linhas 1 e 3 temos perfis normais; na linha 2 temos um perfil de CDG-I (as bandas de assialo- e disialotransferrina estão aumentadas); linhas 4, 5, 7 e 8 apresentam um perfil CDG-II (aumento adicional da monosialo- e trisialotransferrina). Linha 6 apresenta um perfil moderado CDG-I, que se assemelha a um CDG-II. Linha 7 apresenta um perfil combinado de CDG-I e II. Linhas 8 e 11 mostram a transferrina antes e depois do tratamento com neuraminidase (+n) para um CDG-II com defeito MANIBI-CDG e um polimorfismo da transferrina, respetivamente. Quando se trata um polimorfismo com neuroaminidase tornam-se duas bandas visíveis, em vez de uma. Adaptado de (Van Scherpenzeel et al., 2016)

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

Normalmente há uma distinção clara entre um perfil CDG-I e CDG-II. Porém, quando o perfil CDG-I é suave pode ser interpretado como um CDG-II suave e, recentemente, foi reportado um primeiro defeito genético que tem um perfil CDG-I/II devido a uma combinação de falta de glicanos e glicanos truncados (Van Scherpenzeel et al., 2016).

Quando encontramos um caso de CDG-I normalmente seguimos para uma análise nos fibroblastos ou leucócitos para diagnosticar PMM2-CDG, ou PMI-CDG. Excluindo estes, o próximo passo é a análise do dolicol- ou oligossacarídeo ligado ao lípido (LLO) nos fibroblastos (Lefeber, Morava, & Jaeken, 2011). Este processo já começa a ser substituído por painéis de sequenciação de nova geração (*CDG-NGS panel*) sequenciação do exoma com um filtro para os genes de CDG, dado o elevado número de genes envolvidos e fenótipos clínicos sobreponíveis (Van Scherpenzeel et al., 2016). Quando o resultado não é conclusivo, ou em alternativa, pode ser aplicada a sequenciação completa do exoma ou genoma (WES/WGS) sem filtros para CDGs, o que leva a uma maior probabilidade de encontrar novos defeitos de CDG (Van Scherpenzeel et al., 2016).

Uma combinação da eletroforese capilar ou cromatografia líquida com a espectrofotometria de massa como um teste rápido e sensível pode servir para confirmar o defeito genético (Van Scherpenzeel et al., 2016).

Se o perfil encontrado for CDG-II então deve ser feita uma focagem isoelétrica da apolipoproteína C plasmática para distinguir entre defeitos de N-glicosilação isolados e um defeito combinado de N- e O-glicosilação. A electroforese bidimensional com immunoblotting deteta e separa as isoformas da apoC-III, alfatripsina, glicoproteína ácida alfa-I, haptoglobina e transferrina (Bruneel et al., 2007). Recentemente, a análise da espectrofotometria de massa da apoC-III O-glicosilada foi comparada com a electroforese bidimensional por Yen-Nicolay et al. e revelou ser uma técnica promissora para a análise dos defeitos na mucina O-glicosilada (Yen-Nicolaÿ et al., 2015).

Para os restantes CDGs, com defeitos em outras vias de glicosilação, ainda não há nenhuma forma de triagem geral. A coloração muscular com anticorpos pode ser usado para defeitos na O-glicosilação e, para alguns defeitos no GPI, pode ser usada a análise de antigénios CD nas células sanguíneas (Jaeken & Péanne, 2017). Técnicas genéticas, como sequência de um gene alvo e sequenciação de todo o exoma e genoma, têm um papel muito importante no diagnóstico de CDG. No entanto, é sabido que a genética sozinha nunca vai esclarecer um CDG (Jaeken & Péanne, 2017).

Actualmente, a espectroscopia de massa dos N-glicanos no soro e da transferrina dos N-glicanos já foi incluída nalguns laboratórios de diagnóstico de doenças metabólicas, sendo uma técnica muito sensível e específica e que permitiu fazer o diagnóstico de muitos CDG num espaço de tempo mais curto (Van Scherpenzeel et al., 2016).

A lista crescente de CDG que apresenta uma IEF da Tf no soro normal indica que há uma necessidade de encontrar proteínas adicionais para fazer um correto diagnóstico (Jaeken & Péanne, 2017).

Já foi identificado um decréscimo na sialização e galactosilação dos N-glicanos no soro que foi ligado a uma deficiente N-glicosilação no Golgi de proteínas específicas (Van Scherpenzeel et al., 2016).

Já foram descritos alguns biomarcadores marcadores que se apresentam alterados quando há alterações da glicosilação (Van Scherpenzeel et al., 2016). A α 1-antitripsina e a haptoglobina encontram-se com a glicosilação alterada e a ceruplasmina, tiroglobulina e a hormona estimuladora da tiroide têm os níveis baixos e glicosilação anormal (Van Scherpenzeel et al., 2016). Todos estes marcadores podem ser analisados por eletroforese de duas dimensões, com exceção da hormona estimuladora da tiroide que normalmente é analisada por IEF (Van Scherpenzeel et al., 2016).

4. Tratamento

Um tratamento efetivo só ainda está disponível para o MPI-CDG, através de suplementação oral com manose ou transplante de fígado. Também foi testado em duas crianças com CAD-CDG a suplementação com uridina oral, que teve um efeito clínico muito significativo incluindo a paragem imediata das convulsões (Ng et al., 2015)(Koch et al., 2017).

Em alguns casos, como por exemplo SLC35A2-CDG e SLC39A8, a suplementação com galactose oral (até 3,75 g/kg por dia) podem melhorar, ou mesmo, corrigir a glicosilação. No caso do SLC39A2-CDG os suplementos de galactose oral também corrigiram a glicosilação mas a eficácia clínica deste tratamento ainda não é claro. Neste último CDG o tratamento precoce com Mn e galactose deve ser considerado. É o primeiro CDG ligado a uma deficiência de rastreamento de um elemento (Park et al., 2015)(Boycott et al., 2015).

Há um tratamento parcial para o PIGM-CDG (com butirato oral conseguimos controlar as convulsões), SLC35C1-CDG (fucose oral controla as infecções), DOLK-CDG (transplante de coração), PGM1-CDG (a galactose melhora a função hepática e anomalias endócrinas e reduz os episódios hipoglicémicos; (Wong et al., 2017)), PGM3-CDG (transplante de células germinativas hepatopoiéticas corrige a neutropenia e linfopenia; (Stray-Pedersen et al., 2014)) e para os CDG que podem apresentar síndrome miasténico congénito, nomeadamente DPAGT1-CDG, ALG2-CDG, ALG14-CDG e GFPT1-CDG (inibidores da colinesterase). Para o GNE-CDG há evidência que a suplementação com ácido siálico pode estabilizar a força muscular (Argov et al., 2016).

No caso do PMM2-CDG, o tratamento é apenas sintomático. No caso de episódios recorrentes de *stroke-like* o tratamento com baixas doses de ácido acetilsalicílico é eficiente (Jaeken, 2013).

Alguns doentes com XYLT2-CDG receberam tratamento com bifosfonato antes do estudo que revelou não só melhorar a densidade mineral óssea, como também ajudou a dar nova forma às fraturas de compressão e ajudou a reduzir o número de fraturas (Taylan et al., 2016). A fragilidade do osso responde positivamente à terapia com pamidronato em alguns doentes (Taylan et al., 2016).

A terapia génica, substituição enzimática, mudança da via metabólica e suplementação com substrato são terapias muito promissoras e teoricamente viáveis para os CDG (Van Scherpenzeel et al., 2016). Ainda só a suplementação com substrato teve sucesso, como podemos ver acima descrito.

5. Caso Clínico

O soro de uma mulher, 27 anos, com as transaminases e CK elevadas e com um ligeiro atraso motor, chega ao laboratório com um pedido para IEF Tf no soro para despiste de CDG.

A amostra é tratada, é feita a IEF Tf e a sua coloração e o resultado é o seguinte:

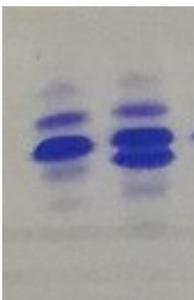


Figura 8: Perfil de IEF Tf no soro. Na linha 1 podemos observar um controlo normal e na linha 2 a amostra em estudo.

Perante esta IEF Tf, e tendo em conta as manifestações clínicas da senhora, podemos dizer que provavelmente esta doente provavelmente não tem um

CDG. No entanto, observamos um aumento da trisialotransferrina sem diminuição da tetrasialotransferrina nem aumento da dissialo-, mono- ou assialotransferrina, como seria expectável num caso de CDG.

Este perfil é sugestivo de uma variante polimórfica na transferrina. Como já foi referida a variante polimórfica difere da forma “wild type” na estrutura primária da proteína, isto é, na sequência de aminoácidos. Para confirmar se é efetivamente uma variante polimórfica, é necessário incubar a amostra com neuraminidase. Se obtivermos duas bandas, que correspondem a duas estruturas diferentes então estamos perante um polimorfismo, se observarmos apenas uma banda estamos perante um CDG em que se observa apenas o aumento da trissialotransferrina.

6. Conclusões e perspetivas futuras

Nos últimos anos tem havido grandes avanços na descoberta e descrição dos defeitos de O-manosilação, síntese de dolicol fosfato e âncoras GPI. Já os métodos de diagnóstico e possíveis tratamentos não acompanharam a mesma rapidez de evolução.

O principal método de diagnóstico, IEF Tf, apenas deteta cerca de metade dos CDG conhecidos e, mesmo alguns CDG que se sabe que têm um perfil característico podem dar normais.

Técnicas genéticas, como sequenciação de uma sequência alvo e sequenciação de todo o exoma e genoma, têm uma importância crescente no diagnóstico dos CDG. Uma abordagem combinada da genómica e glicómica pode ser o próximo método de diagnóstico dos CDG já conhecidos e, também, ser muito útil na descoberta de novas mutações.

A maior parte dos tratamentos que existe é apenas sintomático, de modo a melhorar a qualidade de vida dos doentes. Apenas o MPI-CDG tem um tratamento efetivo. Noutros casos, como SLC35A2-CDG, SLC39A8 e SLC39A2-CDG, já está provado que pode haver melhorias e até correção da glicosilação, mas ainda são necessários mais estudos.

O maior desafio será encontrar um tratamento seguro e efetivo para o PMM2-CDG, que é o subgrupo do CDG que tem mais doentes conhecidos até agora.

Anexos

Nome	Localização celular	Órgãos e tecidos clinicamente afetados	Proteína Defeituosa	Tf-IEF	Modo de transmissão	Processo associado
Defeitos na N-glicosilação das proteínas						
PMM2-CDG	Citoplasma	Sistema nervoso, tecido gordo, e quase todos os órgãos	Fosfomanomutase2	Tipo I	Autossômica recessiva	Síntese de monossacáridos
GMPPA-CDG	Citoplasma	Fibras nervosas autônomas do esôfago distal e glândulas lacrimais, neurónios (cérebro, sistema auditivo, sistema visual)	Guanosina difosfato manose pirofosforilase A		Autossômica recessiva	
GMPPB-CDG	Citoplasma	Cérebro, músculos esqueléticos, olhos, coração	Guanosina difosfato manose pirofosforilase B		Autossômica recessiva	
MPI-CDG	Citoplasma	Intestino, fígado	Manose-6-fosfato isomerase	Tipo I	Autossômica recessiva	
ALG1-CDG	Retículo endoplasmático	Cérebro e envolvimento variável dos olhos, coração, fígado, células beta, rins e gónadas	Manosiltransferase I	Tipo I	Autossômica recessiva	
ALG2-CDG	Retículo endoplasmático	Cérebro, olhos, músculos esqueléticos, junção neuromuscular (síndrome miastênico congénito)	Manosiltransferase 2	Tipo I	Autossômica recessiva	
ALG3-CDG	Retículo endoplasmático	Cérebro, esqueleto	Manosiltransferase 6	Tipo I	Autossômica recessiva	
ALG6-CDG	Retículo endoplasmático	Cérebro, envolvimento variável dos olhos, sistema gastrointestinal, fígado, coração e esqueleto	Glucosiltransferase I	Tipo I	Autossômica recessiva	
ALG8-CDG	Retículo endoplasmático	Cérebro, envolvimento variável dos olhos, pele, fígado e intestino	Glucosiltransferase 2	Tipo I	Autossômica recessiva	
ALG9-CDG	Retículo endoplasmático	Cérebro, fígado, rins e envolvimento variável do tecido adiposo, coração, esqueleto e intestino	Manosiltransferase 7/9	Tipo I	Autossômica recessiva	
ALG11-CDG	Retículo endoplasmático	Cérebro, Sistema auditivo	Manosiltransferase 4/5	Tipo I	Autossômica recessiva	
ALG12-CDG	Retículo endoplasmático	Cérebro, esqueleto, coração, genitália e sistema imune	Manosiltransferase 8	Tipo I	Autossômica recessiva	
ALG13-CDG	Retículo endoplasmático	Cérebro, olhos, fígado	UDP-GlcNAc: DoI-P-GlcNAc-P transferase	Tipo I	Ligada ao X	
ALG14-CDG	Retículo endoplasmático	Junção neuromuscular (Síndrome Miastênico Congénito)	UDP-GalNAc:DoI-PP-GlcNac transferase	Tipo I	Autossômica recessiva	
DDOST-CDG	Retículo endoplasmático	Cérebro, olhos, fígado	Subunidade oligossacariltransferase DDOST	Tipo I	Autossômica recessiva	
DPAGT1-CDG	Retículo endoplasmático	Cérebro, junção neuromuscular (Síndrome miastênico congénito)	UDP-GlcNAc: DoI-P-GlcNac-P	Tipo I	Autossômica recessiva	
MOGS-CDG	Retículo endoplasmático	Cérebro, esqueleto, sistema imunitário	Manosil-oligossacarídeo glicosidade		Autossômica recessiva	
GANAB-CDG	Retículo endoplasmático	Fígado, rins (poliquísticos)	Sub-unidade α da glucosidade II		Autossômica dominante	
PRKCSH-CDG	Retículo endoplasmático	Fígado, rins (poliquísticos)	Sub-unidade β da glucosidade II		Autossômica dominante	
MAN1B1-CDG	Golgi	Cérebro, Caixa craniana, tecido gordo	Golgi α 1-2 manosidase I	Tipo I	Autossômica recessiva	
MGAT2-CDG	Golgi	Cérebro, esqueleto, intestino, sistema imunitário	N-Acetilglucosaminiltransferase 2	Tipo 2	Autossômica recessiva	

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

Defeitos na O-glicosilação das proteínas						
EOGT-CDG	Citoplasma	Pele (aplasia Cutis congénita), esqueleto	Dominio específico EGF da O-GlcNAc transferase	Autossómica recessiva	Defeito na síntese O-N-acetilglucosaminoglicano	
B4GALT7-CDG	Golgi	Cérebro, esqueleto (baixa estatura, extremidades arredondadas), articulações (hiperflexibilidade, deslocamento), pele (envelhecimento precoce)	β -1,4-galactosiltransferas e 7	Autossómica recessiva	Defeitos na síntese do O-xilosilglicano	
B3GALT6-CDG	Golgi	Esqueleto (Fragilidade óssea, cifoscoliose severa), articulações, pele (fragilidade, processo de cicatrização lento)	β -1,3-galactosiltransferas e 6	Autossómica recessiva		
B3GAT3-CDG	Golgi	Cérebro, aorta, coração esqueleto, articulações, pele, dentes	β -1,3-glucuroniltransferas e 3	Autossómica recessiva		
CHSY1-CDG	Golgi	Cérebro, dentes, esqueleto (braquidactilia), sistema auditivo	Condroitina sintase I	Autossómica recessiva		
EXT1-CDG	Golgi	Cartilagem (osteocondromas nas extremidades dos ossos grandes)	Exostosina I	Autossómica dominante		
EXT2-CDG	Golgi	Cartilagem (osteocondromas nas extremidades dos ossos grandes)	Exostosina 2	Autossómica dominante		
XYLT1-CDG	Golgi	Cérebro, esqueleto (baixa estatura, idade óssea avançada), articulações (hiperflexibilidade), gordura	Xilosiltransferase I	Autossómica recessiva		
XYLT2-CDG	Golgi	Cérebro, olhos, coração, sistema auditivo, ossos	Xilosiltransferase 2	Autossómica recessiva		
GALNT3-CDG	Golgi	Tecido subcutâneo (massas calcificadas dolorosas)	UDP-N-acetil- α -D-galactosamina:polipeptido N-acetilgalactosaminiltransferase 3	Autossómica recessiva		Defeito na síntese do O-N-acetilgalactosaminoglicano
LFNG-CDG	Golgi	Esqueleto axial, associado a músculos	O-fucose-específica β -1,3-N-acetilglucosaminiltransferase	Autossómica recessiva		Defeitos na síntese de O-fucosilglicano
POFUT1-CDG	Golgi	Pele (hiper e hipopigmentação reticular progressiva)	Proteína O-fucosiltransferase I	Autossómica Dominante		
B3GALNT2-CDG	Membrana Sarcoplasmática	Cérebro, olhos, músculos esqueléticos	β -1,3-N-acetilgalactosaminiltransferase 2	Autossómica recessiva		
FKTN-CDG	Membrana Sarcoplasmática	Cérebro, olhos, músculos esqueléticos	Ribitol-5-fosfato transferase	Autossómica recessiva		
FKRP-CDG	Membrana Sarcoplasmática	Cérebro, olhos, músculos esqueléticos	Ribitol-5-fosfato transferase	Autossómica recessiva		
ISPD-CDG	Membrana Sarcoplasmática	Cérebro, olhos, músculos esqueléticos	CDP-Ribitol sintase	Autossómica recessiva		
LARGE-CDG	Membrana Sarcoplasmática	Cérebro, olhos, músculos esqueléticos	Proteína Acetilglucosaminiltransferase-"like"	Autossómica recessiva		
POMGNT1-CDG	Membrana Sarcoplasmática	Cérebro, olhos, músculos esqueléticos	Proteína O-manose β -1,2-N-acetilglucosaminiltransferase I	Autossómica recessiva		
POMT1-CDG	Membrana Sarcoplasmática	Cérebro, olhos, músculos esqueléticos, coração	Proteína O-manosiltransferase I	Autossómica recessiva		
POMT2-CDG	Membrana Sarcoplasmática	Cérebro, olhos, músculos esqueléticos	Proteína O-manosiltransferase 2	Autossómica recessiva		
TMEM5-CDG	Membrana Sarcoplasmática	Cérebro, olhos, músculos esqueléticos, gónadas	O-manosilação β -1,4-xilosiltransferase	Autossómica recessiva		

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

Defeitos noutras vias de glicosilação						
DHDDS-CDG	Citoplasma	Retina	Dehidrodolicil difosfato	Tipo 1	Autossómica recessiva	Defeito na síntese do Dolicol
CAD-CDG	Citoplasma	Cérebro, células sanguíneas	Atividade da arbamoil-fosfatase sintetase 2 e aspartato transcarbamilase da enzima trifuncional CAD		Autossómica recessiva	Defeito na síntese de monossacáridos
GFPT1-CDG	Citoplasma	Junção neuromuscular, músculos esqueléticos	Glutamina:frutose 6-fosfato amidotransferase 1		Autossómica recessiva	
GNE-CDG	Citoplasma	Músculos esqueléticos, raramente músculo cardíaco	UDP-GlcNAc 2-epimerase/Man-Nac cinase		Autossómica recessiva	
NANS-CDG	Citoplasma	Cérebro, esqueleto	Síntase do ácido N-acetilneuroamínico		Autossómica recessiva	
PGM1-CDG	Citoplasma	Úvula (palato, lábios), coração, fígado, músculos, órgãos endócrinos	Fosfoglucomutase 1	Tipo 2	Autossómica recessiva	
PGM3-CDG	Citoplasma	Cérebro, sistema imune, esqueleto	Fosfoglucomutase 3		Autossómica recessiva	
CPS2-CDG	Citoplasma	Cérebro, intestino, rins, eritrócitos	Deficiência na carbamilsfosfato sintetase 2		Autossómica recessiva	Defeito na síntese do nucleótido-açúcar
B4GALT1-CDG	Golgi	Rosto (dismorfismo), olhos (miopia)	B-1,4-galactosiltransferase	Tipo 2	Autossómica recessiva	Defeito nas glicosiltransferases
ST3GAL3-CDG	Golgi	Cérebro	B-galactosidase α -2,3-sialiltransferase 3		Autossómica recessiva	
SLC35A1-CDG	Golgi	Cérebro, Coração, Rins, Plaquetas	Transportador do ácido CMP-siálico	Tipo 2	Autossómica recessiva	Defeito nos transportadores nucleótido-açúcar
SLC35A2-CDG	Golgi	Cérebro, olhos, sistema gastrointestinal, esqueleto	Transportador da UDP-galactose	Tipo 2	Ligada ao X	
SLC35A3-CDG	Golgi	Cérebro, esqueleto	Transportador da UDP-GlcNAc		Autossómica recessiva	
SLC35C1-CDG	Golgi	Cérebro, caixa craniana, neutrófilos	Transportador GDP-fucose		Autossómica recessiva	
COG1-CDG	Golgi	Cérebro, esqueleto	Componente 1 do COG	Tipo 2	Autossómica recessiva	Defeitos no complexo COG
COG2-CDG	Golgi	Cérebro, fígado	Componente 2 do COG	Tipo 2	Autossómica recessiva	
COG4-CDG	Golgi	Cérebro, rosto	Componente 4 do COG	Tipo 2	Autossómica recessiva	
COG5-CDG	Golgi	Cérebro, sistema auditivo, visão, fígado, bexiga	Componente 5 do COG	Tipo 2	Autossómica recessiva	
COG6-CDG	Golgi	Cérebro, sistema gastrointestinal incluindo o fígado, sistema imune	Componente 6 do COG	Tipo 2	Autossómica recessiva	
COG7-CDG	Golgi	Cérebro, esqueleto, pele, sistema gastrointestinal incluindo o fígado, coração	Componente 7 do COG	Tipo 2	Autossómica recessiva	
COG8-CDG	Golgi	Cérebro, olhos, sistema nervoso periférico	Componente 8 do COG	Tipo 2	Autossómica recessiva	
ATP6V0A2-CDG	Golgi	Pele (cutis laxa que se vai tornando menos óbvia com a idade), cérebro (desenvolvimento mental maioritariamente normal), olhos, sistema neuromuscular, esqueleto	V0 subunidade A2 da V-ATPase	Tipo 2	Autossómica recessiva	
TMEM165-CDG	Golgi	Cérebro, Esqueleto (particularmente cartilagem), articulações, coração, fígado, rins	Proteína transmembranar 165	Tipo 2	Autossómica recessiva	
VPS13B-CDG	Golgi	Cérebro, olhos, articulações, sistema imune (neutropenia), tecido gordo	Proteína Vacuolar associada à proteína 13B		Autossómica recessiva	

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

SEC23B-CDG	ERGIC	Linhagem de células vermelhas (envolvimento secundário do coração,, fígado e células beta)	Componente SEC23B do COPII		Autossómica recessiva	Defeito no COPII
CCDC115-CDG	ERGIC	Fígado, baço, cérebro	"Coiled-coil domain containing 115"	Tipo 2	Autossómica recessiva	
TMEM199-CDG	ERGIC	Fígado	Proteína Transmembranar 199	Tipo 2	Autossómica recessiva	
SLC39A8	Membrana Plasmática	Cérebro, esqueleto, sistema imunitário	Transportador de Manganêsio e Zinco	Tipo 2	Autossómica recessiva	
Defeitos na glicosilação dos lípidos e na síntese do glicosilfosfatidilinositol						
B4GALNT1-CDG	Golgi	Cérebro, nervos periférico, gónadas	B-1,4-N-acetilgalactosaminiltransferase I (GM2 sintase)		Autossómica recessiva	Defeitos na glicosilação dos lípidos
ST3GAL5-CDG	Golgi	Cérebro, Sistema auditivo, pele	Lactosilceramida α -2,3-sialiltransferase (GM3 sintase)		Autossómica recessiva	
PGAP2-CDG	Golgi	Cérebro	Fosfatidilinositol glicerol acilase		Autossómica recessiva	Defeitos na síntese de GPI
PGAP3-CDG	Golgi	Cérebro	Fosfatidilinositol glicerol desacilase		Autossómica recessiva	

Tabela 1. Listagem de CDG incluindo a via de glicosilação e localização celular. Estão também descritos os principais órgãos e tecidos afetados, a proteína deficiente, o tipo de focagem isoeletrica e forma de transmissão. Adaptado de (Jaeken & Péanne, 2017)

Bibliografia

- AlSubhi, S., AlHashem, A., AlAzami, A., Tlili, K., AlShahwan, S., Lefeber, D., ... Tabarki, B. (2016). Further Delineation of the ALG9-CDG Phenotype. *JIMD Reports*, 27, 107–12. https://doi.org/10.1007/8904_2015_504
- Argov, Z., Caraco, Y., Lau, H., Pestronk, A., Shieh, P. B., Skrinar, A., ... Kakkis, E. (2016). Aceneuramic Acid Extended Release Administration Maintains Upper Limb Muscle Strength in a 48-week Study of Subjects with GNE Myopathy: Results from a Phase 2, Randomized, Controlled Study. *Journal of Neuromuscular Diseases*, 3(1), 49–66. <https://doi.org/10.3233/JND-159900>
- Basmanav, F. B., Oprisoreanu, A.-M., Pasternack, S. M., Thiele, H., Fritz, G., Wenzel, J., ... Betz, R. C. (2014). Mutations in POGlut1, encoding protein O-glucosyltransferase 1, cause autosomal-dominant Dowling-Degos disease. *American Journal of Human Genetics*, 94(1), 135–43. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.12.003>
- Bögershausen, N., Shahrzad, N., Chong, J. X., von Kleist-Retzow, J.-C., Stanga, D., Li, Y., ... Lamont, R. E. (2013). Recessive TRAPPC11 mutations cause a disease spectrum of limb girdle muscular dystrophy and myopathy with movement disorder and intellectual disability. *American Journal of Human Genetics*, 93(1), 181–90. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.05.028>
- Boycott, K. M., Beaulieu, C. L., Kernohan, K. D., Gebril, O. H., Mhanni, A., Chudley, A. E., ... Abou Jamra, R. (2015). Autosomal-Recessive Intellectual Disability with Cerebellar Atrophy Syndrome Caused by Mutation of the Manganese and Zinc Transporter Gene SLC39A8. *American Journal of Human Genetics*, 97(6), 886–893. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.11.002>
- Bruneel, A., Robert, T., Lefeber, D. J., Benard, G., Loncle, E., Djedour, A., ... Seta, N. (2007). Two-dimensional gel electrophoresis of apolipoprotein C-III and other serum glycoproteins for the combined screening of human congenital disorders of O- and N-glycosylation. *PROTEOMICS – Clinical Applications*, 1(3), 321–324. <https://doi.org/10.1002/prca.200600777>
- Caslavska, J., & Thormann, W. (2017). Monitoring of transferrin isoforms in biological samples by capillary electrophoresis. *Journal of Separation Science*. <https://doi.org/10.1002/jssc.201700914>
- Chiyonobu, T., Inoue, N., Morimoto, M., Kinoshita, T., & Murakami, Y. (2014). Glycosylphosphatidylinositol (GPI) anchor deficiency caused by mutations in PIGW is associated with West syndrome and hyperphosphatasia with mental retardation syndrome. *Journal of Medical Genetics*, 51(3), 203–207. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2013-102156>
- Cossins, J., Belaya, K., Hicks, D., Salih, M. A., Finlayson, S., Carboni, N., ... Beeson, D. (2013). Congenital myasthenic syndromes due to mutations in ALG2 and ALG14. *Brain: A Journal of Neurology*, 136(Pt 3), 944–56. <https://doi.org/10.1093/brain/awt010>
- de la Morena-Barrio, M. E., Martínez-Martínez, I., de Cos, C., Wypasek, E., Roldán, V., Undas, A., ... Vicente, V. (2016). Hypoglycosylation is a common finding in antithrombin deficiency in the absence of a SERPINC1 gene defect. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 14(8), 1549–1560. <https://doi.org/10.1111/jth.13372>

- Dörre, K., Olczak, M., Wada, Y., Sosicka, P., Grüneberg, M., Reunert, J., ... Marquardt, T. (2015). A new case of UDP-galactose transporter deficiency (SLC35A2-CDG): molecular basis, clinical phenotype, and therapeutic approach. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 38(5), 931–940. <https://doi.org/10.1007/s10545-015-9828-6>
- Edvardson, S., Murakami, Y., Nguyen, T. T. M., Shahrour, M., St-Denis, A., Shaag, A., ... Elpeleg, O. (2017). Mutations in the phosphatidylinositol glycan C (PIGC) gene are associated with epilepsy and intellectual disability. *Journal of Medical Genetics*, 54(3), 196–201. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2016-104202>
- Farhan, S. M. K., Wang, J., Robinson, J. F., Prasad, a. N., Anthony Rupa, C., Siu, V. M., & Hegele, R. a. (2015). Old gene, new phenotype: Mutations in heparan sulfate synthesis enzyme, EXT2 leads to seizure and developmental disorder, no exostoses. *Journal of Medical Genetics*, 52(10), 666–675. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2015-103279>
- Fauth, C., Steindl, K., Toutain, A., Farrell, S., Witsch-Baumgartner, M., Karall, D., ... Rauch, A. (2016). A recurrent germline mutation in the PIGA gene causes Simpson-Golabi-Behmel syndrome type 2. *American Journal of Medical Genetics, Part A*, 170(2), 392–402. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37452>
- Freeze, H. H., Eklund, E. A., Ng, B. G., & Patterson, M. C. (2012). Neurology of inherited glycosylation disorders. *The Lancet. Neurology*, 11(5), 453–66. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70040-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70040-6)
- Gerin, I., Ury, B., Breloy, I., Bouchet-Seraphin, C., Bolsée, J., Halbout, M., ... Bommer, G. T. (2016). ISPD produces CDP-ribitol used by FKTN and FKRP to transfer ribitol phosphate onto α -dystroglycan. *Nature Communications*, 7, 11534. <https://doi.org/10.1038/ncomms11534>
- Guo, L., Elcioglu, N. H., Iida, A., Demirkol, Y. K., Aras, S., Matsumoto, N., ... Ikegawa, S. (2016). Novel and recurrent XYLT1 mutations in two Turkish families with Desbuquois dysplasia, type 2. <https://doi.org/10.1038/jhg.2016.143>
- Gupta, S., Fahiminiya, S., Wang, T., Dempsey Nunez, L., Rosenblatt, D. S., Gibson, W. T., ... Jerome-Majewska, L. A. (2016). Somatic overgrowth associated with homozygous mutations in both MAN1B1 and SEC23A. *Cold Spring Harbor Molecular Case Studies*, 2(3), a000737. <https://doi.org/10.1101/mcs.a000737>
- Helander, A., Jaeken, J., Matthijs, G., & Eggertsen, G. (2014). Asymptomatic phosphomannose isomerase deficiency (MPI-CDG) initially mistaken for excessive alcohol consumption. *Clinica Chimica Acta*, 431, 15–18. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.01.018>
- Höck, M., Wegleiter, K., Ralser, E., Kiechl-Kohlendorfer, U., Scholl-Bürgi, S., Fauth, C., ... Karall, D. (2015). ALG8-CDG: novel patients and review of the literature. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 10, 73. <https://doi.org/10.1186/s13023-015-0289-7>
- Hogrebe, M., Murakami, Y., Wild, M., Ahlmann, M., Biskup, S., Hörtnagel, K., ... Marquardt, T. (2016). A novel mutation in PIGW causes glycosylphosphatidylinositol deficiency without hyperphosphatasia. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 170(12), 3319–3322. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37950>
- Hu, H., Eggers, K., Chen, W., Garshasbi, M., Motzack, M. M., Wrogemann, K., ... Kuss, A. W. (2011). ST3GAL3 mutations impair the development of higher cognitive functions. *American Journal of Human Genetics*, 89(3), 407–14. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2011.08.008>

- Jaeken, J. (2013). Congenital disorders of glycosylation syndromes. *Handbook of Clinical Neurology*, 113(Chapter 179), 1737–1743. Retrieved from %5C%5Cclarser13%5CTIS\$%5Clit%5CB7000%5CB06675.pdf
- Jaeken, J., Hennet, T., Matthijs, G., & Freeze, H. H. (2009). CDG nomenclature: Time for a change! *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1792(9), 825–826. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2009.08.005>
- Jaeken, J., Lefeber, D., & Matthijs, G. (2015). Clinical utility gene card for: ALG6 defective congenital disorder of glycosylation. *European Journal of Human Genetics : EJHG*, 23(2). <https://doi.org/10.1038/ejhg.2014.146>
- Jaeken, J., & Péanne, R. (2017). What is new in CDG? *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 1–17. <https://doi.org/10.1007/s10545-017-0050-6>
- Jansen, E. J. R., Timal, S., Ryan, M., Ashikov, A., van Scherpenzeel, M., Graham, L. A., ... Lefeber, D. J. (2016). ATP6API deficiency causes an immunodeficiency with hepatopathy, cognitive impairment and abnormal protein glycosylation. *Nature Communications*, 7, 11600. <https://doi.org/10.1038/ncomms11600>
- Jansen, J. C., Cirak, S., van Scherpenzeel, M., Timal, S., Reunert, J., Rust, S., ... Lefeber, D. J. (2016). CCDC115 Deficiency Causes a Disorder of Golgi Homeostasis with Abnormal Protein Glycosylation. *American Journal of Human Genetics*, 98(2), 310–21. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.12.010>
- Kanagawa, M., Kobayashi, K., Tajiri, M., Many, H., Kuga, A., Yamaguchi, Y., ... Toda, T. (2016). Identification of a Post-translational Modification with Ribitol-Phosphate and Its Defect in Muscular Dystrophy. *Cell Reports*, 14(9), 2209–2223. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.02.017>
- Koch, J., Mayr, J. A., Alhaddad, B., Rauscher, C., Bierau, J., Kovacs-Nagy, R., ... Haack, T. B. (2017). CAD mutations and uridine-responsive epileptic encephalopathy. *Brain*, 140(2), 279–286. <https://doi.org/10.1093/brain/aww300>
- Koehler, K., Milev, M. P., Prematilake, K., Reschke, F., Kutzner, S., Jühlen, R., ... Sacher, M. (2017). A novel TRAPPC11 mutation in two Turkish families associated with cerebral atrophy, global retardation, scoliosis, achalasia and alacrima. *Journal of Medical Genetics*, 54(3), 176–185. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2016-104108>
- Lee, J.-K., Kim, H., Park, Y.-M., Kim, D. H., & Lim, H. T. (2017). Mutations in DZIP1 and XYLT1 are associated with nonsyndromic early onset high myopia in the Korean population. *Ophthalmic Genetics*, 1–3. <https://doi.org/10.1080/13816810.2016.1232415>
- Lefeber, D. J., Morava, E., & Jaeken, J. (2011). How to find and diagnose a CDG due to defective N-glycosylation. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 34(4), 849–852. <https://doi.org/10.1007/s10545-011-9370-0>
- Liang, W.-C., Zhu, W., Mitsuhashi, S., Noguchi, S., Sacher, M., Ogawa, M., ... Nishino, I. (2015). Congenital muscular dystrophy with fatty liver and infantile-onset cataract caused by TRAPPC11 mutations: broadening of the phenotype. *Skeletal Muscle*, 5, 29. <https://doi.org/10.1186/s13395-015-0056-4>
- Lundin, K. E., Hamasy, A., Backe, P. H., Moens, L. N., Falk-Sörqvist, E., Elgstøen, K. B., ... Smith, C. I. E. (2015). Susceptibility to infections, without concomitant hyper-IgE, reported in 1976, is caused by hypomorphic mutation in the phosphoglucomutase 3

(PGM3) gene. *Clinical Immunology*. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2015.10.002>

- Makrythanasis, P., Kato, M., Zaki, M. S., Saitsu, H., Nakamura, K., Santoni, F. A., ... Murakami, Y. (2016). Pathogenic Variants in PIGG Cause Intellectual Disability with Seizures and Hypotonia. *American Journal of Human Genetics*, 98(4), 615–26. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.02.007>
- Manya, H., Yamaguchi, Y., Kanagawa, M., Kobayashi, K., Tajiri, M., Akasaka-Manya, K., ... Endo, T. (2016). The Muscular Dystrophy Gene TMEM5 encodes a Ribitol β 1,4-Xylosyltransferase Required for the Functional Glycosylation of Dystroglycan. *Journal of Biological Chemistry*, 291(47), 24618–24627. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.751917>
- Matalonga, L., Bravo, M., Serra-Peinado, C., García-Pelegri, E., Ugarteburu, O., Vidal, S., ... Girós, M. (2017). Mutations in TRAPPC11 are associated with a congenital disorder of glycosylation. *Human Mutation*, 38(2), 148–151. <https://doi.org/10.1002/humu.23145>
- Monin, M.-L., Mignot, C., De Lonlay, P., Héron, B., Masurel, A., Mathieu-Dramard, M., ... Héron, D. (2014). 29 French adult patients with PMM2-congenital disorder of glycosylation: outcome of the classical pediatric phenotype and depiction of a late-onset phenotype. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 9, 207. <https://doi.org/10.1186/s13023-014-0207-4>
- Monticelli, M., Ferro, T., Jaeken, J., dos Reis Ferreira, V., & Videira, P. A. (2016). Immunological aspects of congenital disorders of glycosylation (CDG): a review. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 39(6), 765–780. <https://doi.org/10.1007/s10545-016-9954-9>
- Munns, C. F., Fahiminiya, S., Poudel, N., Munteanu, M. C., Majewski, J., Sillence, D. O., ... Hinsdale, M. E. (2015). Homozygosity for frameshift mutations in XYLT2 result in a spondylo-ocular syndrome with bone fragility, cataracts, and hearing defects. *American Journal of Human Genetics*, 96(6), 971–8. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.04.017>
- Ng, B. G., Shiryayev, S. A., Rymen, D., Eklund, E. A., Raymond, K., Kircher, M., ... Freeze, H. H. (2016). ALGI-CDG: Clinical and Molecular Characterization of 39 Unreported Patients. *Human Mutation*, 37(7), 653–60. <https://doi.org/10.1002/humu.22983>
- Ng, B. G., Wolfe, L. A., Ichikawa, M., Markello, T., He, M., Tiffet, C. J., ... Freeze, H. H. (2015). Biallelic mutations in CAD, impair de novo pyrimidine biosynthesis and decrease glycosylation precursors. *Human Molecular Genetics*, 24(11), 3050–7. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddv057>
- Park, J. H., Högbe, M., Grüneberg, M., Duchesne, I., Von Der Heiden, A. L., Reunert, J., ... Marquardt, T. (2015). SLC39A8 Deficiency: A Disorder of Manganese Transport and Glycosylation. *American Journal of Human Genetics*, 97(6), 894–903. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.11.003>
- Rush, E. T., Baker, C. V., & Rizzo, W. B. (2017). Dolichol kinase deficiency (DOLK-CDG): Two new cases and expansion of phenotype. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 173(9), 2428–2434. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.38287>
- Sabry, S., Vuillaumier-Barrot, S., Mintet, E., Fasseu, M., Valayannopoulos, V., Héron, D., ... Moore, S. E. H. (2016). A case of fatal Type I congenital disorders of glycosylation (CDG I) associated with low dehydrodolichol diphosphate synthase (DHDDS) activity. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 11(1), 84. <https://doi.org/10.1186/s13023-016-0468-1>

- Salter, C. G., Davies, J. H., Moon, R. J., Fairhurst, J., Bunyan, D., & Foulds, N. (2016). Further defining the phenotypic spectrum of B4GALT7 mutations. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 170(6), 1556–1563. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37604>
- Sassi, A., Lazaroski, S., Wu, G., Haslam, S. M., Fliegau, M., Mellouli, F., ... Grimbacher, B. (2014). Hypomorphic homozygous mutations in phosphoglucomutase 3 (PGM3) impair immunity and increase serum IgE levels. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 133(5), 1410–9, 1419–13. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2014.02.025>
- Saudubray, J.-M., Baumgartner, M. R., & Walter, J. (2016). *Inborn Metabolic Diseases: Diagnosis and Treatment - Google Livros*. (J.-M. Saudubray, M. R. Baumgartner, & J. Walter, Eds.) (6th ed.). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-49771-5>
- Schorling, D. C., Rost, S., Lefeber, D. J., Brady, L., Müller, C. R., Korinthenberg, R., & Beytia, M. (2017). Early and lethal neurodegeneration with myasthenic and myopathic features.
- Schreml, J., Durmaz, B., Cogulu, O., Keupp, K., Beleggia, F., Pohl, E., ... Ozkinay, F. (2014). The missing “link”: an autosomal recessive short stature syndrome caused by a hypofunctional XYLT1 mutation. *Human Genetics*, 133(1), 29–39. <https://doi.org/10.1007/s00439-013-1351-y>
- Scott, K., Gadomski, T., Kozicz, T., & Morava, E. (2014). Congenital disorders of glycosylation: new defects and still counting. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 37(4), 609–17. <https://doi.org/10.1007/s10545-014-9720-9>
- Servián-Morilla, E., Takeuchi, H., Lee, T. V., Clarimon, J., Mavillard, F., Area-Gómez, E., ... Paradas, C. (2016). A POGUT1 mutation causes a muscular dystrophy with reduced Notch signaling and satellite cell loss. *EMBO Molecular Medicine*, 8(11), 1289–1309. <https://doi.org/10.15252/emmm.201505815>
- Silveira, C., Leal, G. F., & Cavalcanti, D. P. (2016). Desbuquois dysplasia type II in a patient with a homozygous mutation in XYLT1 and new unusual findings. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 170(11), 3043–3047. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37858>
- Sparks, S. E., & Krasnewich, D. M. (2017). *Congenital Disorders of N-Linked Glycosylation and Multiple Pathway Overview*. GeneReviews®. University of Washington, Seattle. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20301507>
- Stray-Pedersen, A., Backe, P. H., Sorte, H. S., Mørkrid, L., Chokshi, N. Y., Erichsen, H. C., ... Hanson, I. C. (2014). PGM3 mutations cause a congenital disorder of glycosylation with severe immunodeficiency and skeletal dysplasia. *American Journal of Human Genetics*, 95(1), 96–107. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.05.007>
- Tarailo-Graovac, M., Sinclair, G., Stockler-Ipsiroglu, S., Van Allen, M., Rozmus, J., Shyr, C., ... van Karnebeek, C. D. M. (2015). The genotypic and phenotypic spectrum of PIGA deficiency. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 10, 23. <https://doi.org/10.1186/s13023-015-0243-8>
- Taylan, F., Costantini, A., Coles, N., Pekkinen, M., Héon, E., Şıklar, Z., ... Mäkitie, O. (2016). Spondyloocular Syndrome: Novel Mutations in XYLT2 Gene and Expansion of the Phenotypic Spectrum. *Journal of Bone and Mineral Research*, 31(8), 1577–1585. <https://doi.org/10.1002/jbmr.2834>
- Tham, E., Eklund, E. A., Hammarsjö, A., Bengtson, P., Geiberger, S., Lagerstedt-Robinson, K., ... Grigelioniene, G. (2016). A novel phenotype in N-glycosylation disorders: Gillissen-

- Kaesbach-Nishimura skeletal dysplasia due to pathogenic variants in ALG9. *European Journal of Human Genetics: EJHG*, 24(2), 198–207. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2015.91>
- Van Damme, T., Gardeitchik, T., Mohamed, M., Guerrero-Castillo, S., Freisinger, P., Guillemyn, B., ... Wevers, R. A. (2017). Mutations in ATP6V1E1 or ATP6V1A Cause Autosomal-Recessive Cutis Laxa. *American Journal of Human Genetics*, 100(2), 216–227. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.12.010>
- Van Scherpenzeel, M., Willems, E., & Lefeber, D. J. (2016). Clinical diagnostics and therapy monitoring in the congenital disorders of glycosylation. *Glycoconjugate Journal*, 33(3), 345–358. <https://doi.org/10.1007/s10719-015-9639-x>
- Vogt, G., Vogt, B., Chuzhanova, N., Julenius, K., Cooper, D. N., & Casanova, J. L. (2007). Gain-of-glycosylation mutations. *Current Opinion in Genetics and Development*. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2007.04.008>
- Wong, S. Y.-W., Gadomski, T., van Scherpenzeel, M., Honzik, T., Hansikova, H., Holmefjord, K. S. B., ... Morava, E. (2017). Oral D-galactose supplementation in PGMI-CDG. *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*, 0(March), 1–10. <https://doi.org/10.1038/gim.2017.41>
- Yen-Nicolay, S., Boursier, C., Rio, M., Lefeber, D. J., Pilon, A., Seta, N., & Bruneel, A. (2015). MALDI-TOF MS applied to apoC-III glycoforms of patients with congenital disorders affecting O-glycosylation. Comparison with two-dimensional electrophoresis. *PROTEOMICS - Clinical Applications*, 9(7–8), 787–793. <https://doi.org/10.1002/prca.201400187>
- Yuste-Checa, P., Vega, A. I., Martín-Higueras, C., Medrano, C., Gámez, A., Desviat, L. R., ... Pérez, B. (2017). DPAGT1-CDG: Functional analysis of disease-causing pathogenic mutations and role of endoplasmic reticulum stress. *PloS One*, 12(6), e0179456. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179456>
- Zelinger, L., Banin, E., Obolensky, A., Mizrahi-Meissonnier, L., Beryozkin, A., Bandah-Rozenfeld, D., ... Sharon, D. (2011). A missense mutation in DHDDS, encoding dehydrodolichyl diphosphate synthase, is associated with autosomal-recessive retinitis pigmentosa in Ashkenazi Jews. *American Journal of Human Genetics*, 88(2), 207–15. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2011.01.002>
- Zhang, Y., Yu, X., Ichikawa, M., Lyons, J. J., Datta, S., Lamborn, I. T., ... Milner, J. D. (2014). Autosomal recessive phosphoglucomutase 3 (PGM3) mutations link glycosylation defects to atopy, immune deficiency, autoimmunity, and neurocognitive impairment. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 133(5), 1400–9, 1409–5. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2014.02.013>
- Züchner, S., Dallman, J., Wen, R., Beecham, G., Naj, A., Farooq, A., ... Peričak-Vance, M. A. (2011). Whole-exome sequencing links a variant in DHDDS to retinitis pigmentosa. *American Journal of Human Genetics*, 88(2), 201–6. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2011.01.001>

Relatório de Estágio em Laboratório de Análises

Abreviaturas

CGMDJM- Centro de Genética Médica Doutor Jacinto Magalhães

GAA- Ácido Guanidino Acético

HGSA- Hospital Geral de Santo António

IGM- Instituto de Genética Médica

MICF- Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

I. Introdução

O presente relatório foi elaborado no âmbito do Estágio Curricular do Mestrado Integrado de Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, tendo o mesmo decorrido na Unidade de Bioquímica Clínica do Centro de Genética Médica Doutor Jacinto Magalhães (CGMJM), no período de 16 de janeiro a 13 de abril de 2017.

A realização deste estágio teve como principal objectivo proporcionar um primeiro contacto com um laboratório de diagnóstico de doenças raras. Foi-me dada a oportunidade de integrar a equipa de trabalho do laboratório, tendo passado por várias áreas, o que me permitiu colocar em prática os conhecimentos adquiridos ao longo do curso, perceber como fazer a ponte entre a teoria e a prática, bem como a aquisição de novos conhecimentos e desenvolvimento de competências que são de extrema importância para aplicação num futuro profissional.

Quando surgiu a oportunidade de estagiar no CGMJM, considerei-a como uma mais-valia para a minha formação enquanto futura farmacêutica, ingressando deste modo numa das minhas áreas de interesse: a atividade laboratorial e o diagnóstico de doenças raras.

O diagnóstico de doenças raras compreende várias fases, desde a receção da amostra, o seu respetivo tratamento até à análise propriamente dita, a interpretação de resultados e a elaboração do relatório. Tive oportunidade de observar todo o percurso da amostra desde que entra no laboratório até ao envio do relatório clínico, ficando assim com uma visão muito mais alargada do trabalho que existe entre uma colheita e um resultado final.

O objectivo deste relatório consiste numa avaliação crítica das atividades desenvolvidas e dos conhecimentos adquiridos durante o estágio através de uma análise S.W.O.T. fundamentada, apresentando sob o ponto de vista interno, os pontos fortes (*strengths*) e fracos (*weaknesses*), e, do ponto de vista externo, as oportunidades (*opportunities*) e ameaças (*threats*).

2. Apresentação do CGMJM

O Instituto de Genética Médica Doutor Jacinto Magalhães (IGM) foi criado em 1980.

É uma estrutura de trabalho multidisciplinar, integrando a componente clínica e laboratorial, tendo como missão a prestação de cuidados de saúde, a investigação e a formação na área de genética médica. (1)

O centro dispõe de vários serviços, nas diversas valências, tais como consulta de genética, consulta de pré-natal, consulta de nutrição e consulta de psicologia na unidade de genética médica. A parte laboratorial é constituído por três unidades: bioquímica genética, citogenética e genética molecular e tem também uma parte de investigação e a central de produtos dietéticos hipoproteicos, sendo a consulta de nutrição, desde 1990, responsável pela sua gestão a nível nacional. (1)

Encontra-se desde 2013 integrado no Centro Hospitalar do Porto, tendo adoptado a designação de Centro de Genética Médica Doutor Jacinto Magalhães (CGMJM), mas mantendo a localização original na Praça Pedro Nunes, n.º 88, 4099-028 Porto. (1)

3. Unidade de Bioquímica Genética

A actividade do CGMJM é assegurada por essencialmente três unidades, entre as quais a unidade de Bioquímica Genética.

Ao longo do estágio contactei diariamente com o trabalho desenvolvido nesta unidade, tendo visto e participado no diagnóstico e controlo de várias doenças raras de diferentes áreas, nomeadamente no metabolismo dos lisossomas, dos peroxissomas, dos hidratos de carbono, dos aminoácidos e ácidos gordos, da creatina e outros distúrbios metabólicos, défices congénitos da glicosilação, síntese de ácidos biliares e farmacogenética.

4. Análise SWOT

Pontos Fortes	Pontos Fracos
<ul style="list-style-type: none">- Acolhimento e integração no CGMJM-Integração da aprendizagem teórica com a atividade profissional-Oportunidade de expansão de conhecimentos na área da genética e das doenças raras-Passar por diferentes análises feitas com técnicas específicas e por diferentes técnicos-Integração de uma equipa multidisciplinar-Orientação e acompanhamento feito por uma farmacêutica	<ul style="list-style-type: none">- Duração muito curta- Equipamento partilhado com Laboratório de Química Clínica do Hospital Geral de Santo António, Centro Hospitalar do Porto
Oportunidades	Ameaças
<ul style="list-style-type: none">- Desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico- Farmacêuticos com formação na área de genética médica	<ul style="list-style-type: none">- Concorrência de outros laboratório de rastreio de doenças raras

4.1. PONTOS FORTES

4.1.1. Acolhimento e integração no CGMJM

Desde o primeiro dia que senti um bom acompanhamento na minha integração.

Durante o estágio tive oportunidade de fazer uma visita guiada pela Unidade de Bioquímica Genética e foi-me explicada a origem do CGMJM, bem como quais as unidades que o mesmo dispõe e os serviços de análises que oferece. Tive uma formação contínua na área das doenças raras, sendo que me foi disponibilizado inicialmente material de formação

base para posteriormente conseguir acompanhar a análise e diagnóstico de uma doença específica. Tive também oportunidade de participar em algumas conferências e congressos na área, nomeadamente no 13º Simpósio Internacional da Sociedade Portuguesa de Doenças Metabólicas, o que foi muito benéfico para a minha formação académica e profissional. Toda a formação que me foi proporcionada, toda a disponibilidade e apoio que me foi oferecido pela equipa da Unidade para o esclarecimento de dúvidas e desempenho de atividades, foram determinantes para a minha integração no centro e na minha aprendizagem.

4.1.2. Integração da aprendizagem teórica com a atividade profissional

Com a realização deste estágio tive a oportunidade de aplicar diretamente conhecimentos adquiridos durante o MICEF, essencialmente nas unidades curriculares de Bioquímica, Métodos Instrumentais de Análise e Biologia Celular e Molecular. A escolha de realizar o meu estágio num setor associado à área laboratorial foi devido ao meu interesse na área das doenças raras e ao meu gosto pela investigação.

De realçar que consegui acompanhar algumas amostras desde a sua chegada ao laboratório até à saída do resultado, conseguindo ver diferentes métodos de tratamento da amostra conforme a análise que era pedida, assim como acabei por ter contacto com diferentes métodos e técnicas de diagnóstico para as diferentes doenças. Isto permitiu-me ver a aplicabilidade de muitos conhecimentos teóricos adquiridos e adaptar-me a instrumentos com os quais só agora tive um primeiro contacto, levando a uma complementaridade dos meus conhecimentos.

4.1.3. Oportunidade de expansão de conhecimentos na área das doenças raras e genética

Este tema não é muito abordado durante o MICEF, nem temos contacto com a área da genética. Ter vindo para o Centro de Genética Médica foi muito desafiante, uma vez que tive de realizar muito trabalho, de forma individual, para conseguir acompanhar todas as tarefas realizadas diariamente no laboratório. Fez com que o meu conhecimento se expandisse em mais uma área, que considero muito interessante e importante, e fez com que ganhasse muita sensibilidade para um tema pouco conhecido: as doenças raras.

Consegui fazer a ponte das doenças raras para os medicamentos órfãos, ficando agora com uma visão diferente sobre os mesmos. É uma área que ainda precisa de muita pesquisa e investigação, há muitas doenças que ainda não têm tratamento nem nada para minimizar os principais sintomas das mesmas.

4.1.4. Diferentes análises, técnicas específicas e diferentes técnicos

A unidade de bioquímica genética está organizada de forma a que cada técnico realize uma análise específica, ou seja, se uma amostra der entrada no laboratório para, por exemplo, análise do perfil de aminoácidos, esta amostra é imediatamente tratada pela pessoa de serviço (papel rotativo e com mudança semanal), e depois dada ao técnico responsável pelas análises dos perfis de aminoácidos que vai colocar a amostra a correr, interpretar os resultados e escrever os relatórios para o médico. Antes do relatório sair, este tem de ser assinado pela pessoa que fez a análise, pela pessoa que escreveu o relatório (que pode ou não ser a mesma) e pela responsável do laboratório, neste caso, a Dra. Lúcia Lacerda.

Durante o tempo que estive no Centro de Genética tive oportunidade de acompanhar várias amostras para diferentes análises, conseguindo assim ver a realização de diferentes técnicas. Isto permitiu que tivesse uma visão global das análises realizadas na unidade de bioquímica e tivesse contacto com diferentes técnicas, muitas delas não abordadas durante o MICEF.

Durante o acompanhamento de algumas amostras tive contacto com culturas celulares – sendo que consegui semear uma biópsia de pele e acompanhar durante algumas semanas o seu crescimento celular – aprendi também como desenhar *primers* para usar na técnica de PCR para amplificação de uma sequência específica, fazer a análise da quantificação de aminoácidos na urina e no soro, diagnóstico e acompanhamento de doentes com fenilcetonúria, de doenças lisossomais, défices congénitos da glicosilação, entre outros.

4.1.5. Integração de uma equipa multidisciplinar

Na unidade de bioquímica clínica há profissionais de diferentes áreas da saúde, nomeadamente bioquímicos, técnicos de análises e farmacêuticos. Assim, consegui aproveitar um pouco dos conhecimentos mais específicos de cada um e observar diferentes métodos de trabalho enriquecendo os meus conhecimentos, fosse em matérias ainda desconhecidas ou aprofundando outros já adquiridos (como aprender uma maneira diferente de realizar a mesma técnica, por exemplo).

É muito enriquecedor poder trabalhar com profissionais de áreas diferentes, pois ajuda a ter uma visão mais alargada sobre todos os procedimentos, bem como a ter uma perspetiva diferente de processos já conhecidos.

Conhecer várias maneiras de realizar a mesma tarefa fez com que pudesse experimentar qual a maneira que mais se adaptava a mim, desenvolvendo desta maneira um método de trabalho mais adequado.

4.1.6. Orientação e acompanhamento feito por uma farmacêutica

O meu estágio foi orientado por uma farmacêutica, Dra. Dulce Quelhas, o que permitiu que todas as atividades realizadas fossem mais dirigidas à profissão e adaptadas aos conhecimentos específicos da área.

Ter como orientadora uma farmacêutica foi uma mais valia para o meu estágio. Adquiri uma visão diferente daquilo que a nossa profissão nos habilita a fazer e vi o quão alargado é o nosso plano curricular. Todo o meu estágio foi dirigido para a aplicação do conhecimento adquirido e consegui perceber as potencialidades que a nossa formação base nos dá, muito além de estar numa Farmácia Comunitária.

4.2. Pontos Fracos

4.2.1. Duração muito curta

O tempo que estive no CGMDJM foi muito curto para conseguir aprender bem todas as técnicas. Devido à grande diversidade de análises a serem lá realizadas, apenas consegui acompanhar diferentes técnicas do início ao fim duas ou três vezes, considerando que a maioria das técnicas são morosas, levando cerca de 4 a 5 dias a produzir um resultado. Isto permitiu-me ter uma ideia geral de grande parte delas, mas não foi suficiente para ganhar autonomia.

Devíamos ter mais oportunidades ao longo do MICF para fazer estágios como este, que são um excelente investimento na nossa formação e que seriam benéficos para podermos aproveitar mais o nosso estágio curricular.

4.2.2. Equipamento partilhado com Laboratório de Química Clínica do Hospital Geral de Santo António, Centro Hospitalar do Porto

Um dos aparelhos - HPLC- MS/MS, usado para fazer os controlos de fenilalanina e diagnóstico ou despiste de défices nos metabolismos do GAA e da creatina, não está no CGMDJM, mas sim no HGSA, sendo que há muito tempo perdido nas viagens entre estes dois locais para deixar as amostras a correr. Estas análises, pelo menos a fenilcetonúria, são feitas três vezes por semana, o que resulta em muito tempo gasto em deslocações.

O posterior acesso aos resultados por controlo remoto do equipamento é muito benéfico e permite a minimizar algumas viagens, mas, ainda assim, já se justifica o investimento num aparelho de HPLC- MS/MS para estar no CGMDJM.

4.3. Oportunidades

4.3.1. Desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico

Enquanto estive no CGMDJM tive oportunidade de ajudar a tentar desenvolver novos métodos de diagnóstico. Por exemplo, o método de deteção da apolipoproteína C-III por LC-MS ainda não foi validado na instituição. O que fiz foi ajudar a compilar informações de artigos científicos com a descrição do método e perceber como o podíamos aplicar nas condições que tínhamos, quais os materiais que eram necessários comprar, que ajustes eram necessários fazer, entre outras coisas.

Foi muito benéfico para mim passar por esta experiência, uma vez que nunca tinha desenvolvido um método e assim consegui perceber quais os passos a seguir e como podemos aproveitar melhor todo o nosso equipamento, de modo a alargar o espectro de análises passíveis de serem realizadas, o que é uma mais valia para o laboratório, considerando que o diagnóstico de alguns tipos de CDG podem beneficiar deste tipo de método para serem mais rápidos e eficazes.

4.3.2. Farmacêuticos com formação de genética médica

Este estágio permitiu-me perceber que o farmacêutico é um profissional de saúde com capacidades multidisciplinares adequadas para estar a trabalhar num laboratório de diagnóstico de doenças raras.

A nossa formação básica permite-nos ter, com facilidade, formação na área de Genética Humana, o que facilita o desenvolvimento de aptidões relevantes para fazer um diagnóstico de uma doença genética rara.

A quantidade de farmacêuticos especialistas em Genética Humana em Portugal é muito reduzida. Esta é uma boa oportunidade para nos diferenciarmos e também prestigiar a profissão com mais pessoas em diferentes áreas em que somos também bons profissionais.

4.4. Ameaças

4.4.1. Concorrência de outros laboratórios de diagnóstico de doenças raras

A principal preocupação de um laboratório de diagnóstico de doenças raras é o doente.

O tempo desde que a amostra entra no laboratório até à saída do resultado é crucial para que se possa intervir o mais cedo possível, principalmente se o doente estiver com uma clínica aguda e a precisar de intervenção médica.

Mas, não obstante, um laboratório de análises, quer seja de doenças raras ou não, necessita de dar lucro. Há despesas que necessitam de ser asseguradas. Então, é muito importante a divulgação dos serviços e a qualidade dos mesmos perante hospitais e clínicas

para que estes enviem as suas amostras para o CGMDJM e não para outro laboratório que disponibilize o mesmo serviço.

Também é importante conseguir protocolos com indústrias farmacêuticas, por exemplo para o desenvolvimento de medicamentos órfãos, que financiem rastreio de algumas doenças.

5. Conclusão

A realização do estágio curricular num laboratório de diagnóstico de doenças raras foi, sem dúvida, uma experiência única e bastante enriquecedora.

A oportunidade de vivenciar diariamente todo o trabalho e dinâmica de funcionamento associado ao diagnóstico e seguimento de doentes com doenças genéticas raras proporcionou-me uma nova visão do trabalho de um farmacêutico num laboratório.

Com o término deste estágio posso concluir que os objetivos propostos foram cumpridos, as minhas expectativas alcançadas e que este estágio me permitiu adquirir conhecimentos e competências que, independentemente da área em que ingressar, me serão bastante úteis.

Neste estágio reconheci a importância de ter o trabalho sempre bem orientado, com todos os materiais devidamente identificados e que tudo seja rastreável. A trabalhar com muitas pessoas no mesmo espaço temos de nos certificar que não há dúvidas em relação ao que fazer e ao que já foi feito, e que é necessário uma atenção redobrada quando se trabalha em equipa para que não haja inequívocos.

Em suma, a integração nesta equipa permitiu-me participar em quase todas as tarefas desenvolvidas no quotidiano do laboratório e, deste modo, satisfazer o meu interesse e curiosidade em contactar com esta vertente laboratorial.

Os conhecimentos adquiridos serão, com certeza, uma mais valia no meu futuro profissional e na minha formação pessoal.

Bibliografia

1. <http://www.chporto.pt/cgmjm>, acedido a 22 de Agosto de 2017

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Abreviaturas

CICAP- Centro Integrado de Cirurgia Ambulatória do Porto

DCI- Denominação Comum Internacional

LASA- “Look Alike - Sound Alike”

MICF- Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

PUV- Produto de uso Veterinário

PVP- Preço de venda ao público

I. Introdução

“A Farmácia Comunitária é a face mais visível da profissão. É o primeiro local a que os portugueses recorrem em questões de saúde. É por isso um setor com uma importância estratégica no sistema de saúde, com integração e articulação na rede de cuidados de saúde primários; são unidades de saúde modernas, que sempre apostaram na inovação e em pessoal qualificado. Os utentes reconhecem-lhe proximidade, disponibilidade, confiança e, acima de tudo, dedicação e competência profissional, numa relação secular que muito valoriza o papel que o farmacêutico comunitário hoje assume na nossa sociedade.” (1)

Ao longo dos últimos anos, o conceito de Farmácia Comunitária sofreu algumas alterações, deixando de ser um local reservado exclusivamente à dispensa de medicamentos para ser um local também destinado à promoção da saúde e bem-estar. Os utentes já começam também a perceber melhor este conceito, procurando no farmacêutico conselhos a vários níveis e aconselhamento de produtos de cosmética, suplementos alimentares, entre outros.

Esta nova realidade exige ao farmacêutico uma constante atualização de conhecimentos para conseguir dar resposta às preocupações dos utentes.

O meu estágio curricular foi desenvolvido na Farmácia Cardona dos Santos, localizada na cidade do Porto, sobre a orientação da Dra. Isabel Osório.

O presente relatório tem como objetivo expor, através de uma análise S.W.O.T. fundamentada, os conhecimentos adquiridos, assim como as atividades desenvolvidas durante o estágio apresentado, sob o ponto de vista interno, os pontos fortes e fracos e do ponto de vista externo as oportunidades e as ameaças.

2. Farmácia Cardona Dos Santos

A Farmácia Cardona dos Santos, sob a direção técnica da Dra. Isabel Osório, constitui uma farmácia de referência na cidade do Porto. Está sediada na rua D. Manuel II, com grande proximidade ao Hospital de Santo António, estando mesmo na frente de uma das suas unidades, CICAP.

Esta Farmácia tem uma localização privilegiada, não só por ser muito próxima do centro, permitindo que seja ponto de passagem para vários turistas, como também é o primeiro ponto de paragem após a saída dos cuidados de urgência e consulta do viajante do hospital. No entanto, a comunidade da farmácia é constituída essencialmente pelos seus clientes fidelizados, muitos desde a fundação da farmácia e são, na sua maioria, idosos polimedicados que depositam total confiança no profissionalismo e no serviço de excelência prestado pela equipa técnica da Farmácia. Com isto, a Farmácia lida diariamente com uma heterogeneidade de utentes bastante grande o que implica que haja, da parte do farmacêutico, uma constante adaptação, estimulando o seu crescimento profissional e pessoal.

O período de funcionamento da farmácia é de segunda a sexta das 9h às 20h e aos sábados das 9h às 13h.

3. Análise S.W.O.T.

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Atendimento ao Público

O farmacêutico é o profissional de saúde mais próximo do utente sendo, por isso, muitas vezes solicitado como primeira escolha para a resolução de problemas de saúde. Cabe ao farmacêutico, no momento do atendimento, garantir que as necessidades do utente são adequadamente atendidas, prestando os devidos conselhos e esclarecimentos.

Durante o atendimento é estabelecida uma relação de confiança entre o farmacêutico e o utente. É necessário que o farmacêutico transmita toda a informação necessária e faça o devido aconselhamento para que seja fácil ao utente fazer uma boa adesão à terapêutica e deixando-os, também, mais confortáveis com o seu regime terapêutico.

Cada atendimento é único. Temos que ter em conta a idade do utente, a própria situação clínica, o interesse demonstrado e o nível de literacia para conseguirmos adequar o discurso e a abordagem a ter. Para um bom atendimento é necessário que a principal

preocupação do utente, o motivo que o levou à farmácia, seja bem compreendida da nossa parte para que fique claramente esclarecido sobre a mesma. O mais importante é saber ouvir o doente e daí retirar o máximo de informação, de modo a fazer as perguntas certas, tendo um discurso assertivo, coerente e adequado e sempre com o utente como foco principal. É necessário que o utente não fique com dúvidas quanto à forma correta de tomar a medicação, bem como a posologia de cada medicamento e a duração do tratamento. É muito importante ter em conta não só a comunicação verbal, como a não-verbal do utente, para poder personalizar o atendimento e ajustar o diálogo/comportamento e a informação prestada ao utente.

Durante este estágio tive oportunidade de experienciar o contato direto com os utentes e observar o impacto e importância do ato farmacêutico. Enquanto estagiária, tive oportunidade de lidar com diferentes situações, diferentes pessoas com necessidades diversas.

3.1.2. Diversidade de produtos

A Farmácia Cardona dos Santos, além dos medicamentos, tem à disposição dos seus utentes uma variedade de produtos que visam a melhoria e manutenção da qualidade de vida dos utentes. Tem uma vasta gama de produtos de saúde como: suplementos alimentares, produtos de veterinária, cosméticos, produtos de ortopedia, produtos de higiene, dispositivos médicos. Como estagiária, tive contato com diversas gamas de produtos, o que permitiu alargar o meu leque de conhecimentos, facilitando e tornando o seu aconselhamento mais eficiente.

- Dermofarmácia e Cosmética

Ao nível de dermofarmácia e cosmética a Farmácia tem disposta por vários lineares diversas marcas, permitindo ao utente ter um alargado espetro de escolha.

É cada vez mais notório uma preocupação crescente, por parte do utente, em ter um cuidado quotidiano adequado ao tipo de pele, daí a necessidade de apostar em marcas de referência no mercado, que possam ser adequadas a várias pessoas, tanto a nível económico como ao nível do tipo de cuidado pretendido. Dada a variedade de marcas e gamas de cosmética disponíveis, assim como o contínuo desenvolvimento de novos produtos e reformulações de cada linha, é necessário que o farmacêutico esteja permanentemente atualizado, de forma a que as necessidades dos utentes sejam prontamente atendidas assegurando a sua satisfação. Desde os cuidados mais básicos como a limpeza da pele,

hidratação e proteção, passando para cuidados específicos como correção das imperfeições, a opção de escolha é variada, sendo muitas vezes influenciada pelos *media/publicidade*, pelas tendências e até pela época do ano. O farmacêutico desempenha aqui um papel no auxílio da escolha dos produtos mais adequados a cada utente e situação, colocando em prática a sua formação e conhecimentos.

Durante o estágio tive oportunidade de contactar com distintas marcas, como Avène®, Uriage®, Caudalie®, Lierac®, La Roche Posay®, Bioderma®, Freezyderm®, SVR®, Filorga® e Sesderma®, que são as principais marcas com que a Farmácia trabalha, assim como experienciar diferentes situações de aconselhamento, potenciando a minha aquisição de novos conhecimentos nesta área. De salientar que, dada as várias especificações de cada linha e a variedade de produtos existentes, quaisquer dúvidas que me surgissem ao nível do aconselhamento eram prontamente esclarecidas pela equipa, permitindo uma maior facilidade de aprendizagem.

- Produtos de Uso veterinário

A Farmácia Cardona dos Santos tem à disposição do utente alguns produtos de uso veterinário (PUV), nomeadamente desparasitantes externos (Advantix®, Frontline®, Advantage®), desparasitantes internos (Cazitel® e o Drontal®), métodos anticoncepcionais (Milbemax®) e medicamentos como o Fortekor® para tratamento da insuficiência cardíaca e renal crónica. Dispõe também de alguns champôs específicos para cães e gatos.

- Dispositivos médicos

Os dispositivos médicos são importantes instrumentos de saúde que englobam uma enorme variedade de produtos que se destinam a ser utilizados quer por profissionais de saúde, que por não-profissionais, para fins semelhantes aos do medicamento, tais como prevenir, diagnosticar, monitorizar, tratar ou atenuar uma doença. No entanto, para atingir o efeito pretendido não podem ter o mesmo mecanismo de ação que os medicamentos, não podem atuar por um mecanismo farmacológico, imunológico ou metabólico.

Os dispositivos médicos mais procurados pelos utentes são as lancetas, os testes de gravidez, as meias de compressão, os xaropes da tosse (Grintuss), as ligaduras, os adesivos, os pensos e os preservativos, entre outros, sendo que o conhecimentos das respectivas funções, modo de utilização e a existência de eventuais advertências é de extrema importância no momento de aconselhamento.

- Produtos de higiene

Relativamente aos produtos de higiene oral, existe uma grande diversidade de produtos: escovas de dentes, escovilhões, pastas de dentes, colutórios, *sprays*, pastilhas efervescentes. Existem opções para uma grande panóplia de problemas: cáries, sensibilidade dentária, sangramento gengival, aftas, branqueamento dentário e de próteses dentárias, fixação de próteses, entre outros. As marcas mais vendidas são Hextril®, Elgydium®, Tantum Verde®, Corega®.

Ao nível de higiene íntima a farmácia dispõe de alguns produtos bastante específicos, lidando principalmente com marcas como Lactacyd®, D'aveia®, Saforelle®, LetiFem®, Velastisa®, entre outras.

- Suplementos alimentares

Os suplementos alimentares são géneros alimentícios que se destinam a complementar e/ou suplementar o regime alimentar normal e que constituem fontes concentradas de determinadas substâncias, nutrientes ou outras com efeito nutricional ou fisiológico, comercializadas em formas doseadas, tais como cápsulas, pastilhas, comprimido, que se destinam a serem tomadas em unidades de medida de quantidade reduzida (2). Um suplemento nunca deve ser usado como uma alternativa a um medicamento para o tratamento de determinada doença, mas pode, no entanto, ser uma mais valia como adjuvante de uma terapêutica medicamentosa. Antes de se iniciar a toma de suplementos alimentares é necessário verificar a existência de qualquer interação com a terapêutica habitual do doente, caso seja o caso, nunca esquecendo que os suplementos não são isentos de riscos.

O farmacêutico desempenha um papel crucial no aconselhamentos destes suplementos, tendo por base a evidência científica e a sua formação para avaliar a sua necessidade, assim como, as possíveis interações e efeitos adversos.

Desde suplementos para perda de peso, suplementos para controlo dos níveis de colesterol e triglicéridos, a suplementos para melhorar o rendimento escolar e o cansaço mental/intelectual, a procura destes produtos é variada, assim como a diversidade de produtos existentes para cada situação, cabendo a cada farmácia apostar nos suplementos que lhes transmitam mais confiança.

- Medicamentos à base de plantas

Um medicamento à base de plantas é qualquer medicamento que tenha exclusivamente como substância ativa uma ou mais substâncias derivadas de plantas, uma ou mais preparações à base de plantas ou uma ou mais substâncias derivadas de plantas em associação com uma ou mais preparações à base de plantas (3).

Ao longo do tempo, tendo em conta os efeitos secundários associados aos fármacos de síntese química, a ineficácia demonstrada de algumas terapêuticas convencionais, assim como o próprio desenvolvimento do conhecimento científico e técnico impulsionaram a procura e aposta no mercado à base de plantas.

Os medicamentos à base de plantas podem ser utilizados como auxiliares nos cuidados primários de saúde e/ou como complemento terapêutico.

O farmacêutico, enquanto profissional de saúde, deve estar capacitado a responder aos pedidos de orientação farmacêutica e clínica destes produtos, promovendo o seu uso racional, pois apesar dos menores efeitos secundários e de se tratarem de medicamentos à base de plantas, não são inócuos.

Durante o meu estágio percebi que os medicamentos à base de plantas na Farmácia Cardona dos Santos são sobretudo para problemas de insónia/ansiedade, laxantes e reguladores de trânsito intestinal e auxiliares de emagrecimento.

3.1.3 Dinamização e gestão da farmácia

A Farmácia é um negócio e a existência de um mercado cada vez mais competitivo torna imperativo o desenvolvimento de ferramentas para dinamizar e otimizar a gestão da farmácia. A primeira e principal responsabilidade do farmacêutico é para com a saúde e bem-estar do doente e do cidadão em geral, no entanto, a vertente comercial associada a uma farmácia não pode ser dissociada da sua atividade.

Todo o espaço da farmácia é estrategicamente preparado de modo a despertar a atenção dos utentes. Desde a apresentação e disposição das montras, ao posicionamento das gôndolas e à disposição dos lineares, tudo é colocado para motivar e estimular a compra, dando especial destaque às situações mais vantajosas para o utente, por exemplo,

campanhas promocionais. A organização do espaço é fortemente influenciada pelas tendências do mercado, acompanhando a publicidade de impacto nos *media* e, acima de tudo, influenciada pelas características da população de utentes da farmácia.

De realçar que uma boa gestão de *stock* permite uma oferta diferenciada de produtos, garantindo a satisfação das necessidades e das preferências dos seus utentes.

A Farmácia Cardona dos Santos aposta fortemente no *merchandising* tendo especial atenção à distribuição dos produtos nas zonas quentes da farmácia. O destaque dado às campanhas promocionais, assim como às iniciativas sazonais, como é caso dos solares na altura do verão, tem como principal objetivo oferecer uma experiência positiva aos utentes, aliando ao lado comercial da compra a um lado emocional que permita ao utente satisfazer as suas necessidades, até as mais latentes, numa situação de claro benefício para o utente, mas também para a farmácia.

A Farmácia tem também, pontualmente, profissionais de saúde que lá se deslocam num dia específico com uma promoção que só é possível realizar com eles para promover um dado produto específico ou uma dada marca. Este tipo de ação vai dando uma dinâmica diferente à venda do produto e traz um benefício imediato para o utente fazendo com que leve a oferta especial. Através destas ações também são fidelizados muitos utentes a uma dada marca, fazendo-os voltar.

3.1.4. Preparação de medicamentos manipulados

Um medicamento manipulado é qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico, sendo da sua responsabilidade garantir qualidade do mesmo e verificar a sua segurança, no que diz respeito à(s) dose(s) da(s) substância(s) ativa(s) e à existência de interações que ponham em causa a ação ou a segurança do utente (4).

Atualmente, a preparação de manipulados não é uma prática muito comum nas farmácias devido ao desenvolvimento da indústria farmacêutica e à variedade de medicamentos disponíveis no mercado. No entanto, a procura ainda existe pelo que, durante o estágio da Farmácia Cardona dos Santos, tive a oportunidade não só de observar como também proceder à preparação de alguns manipulados. A maioria deles são para uso externo, nomeadamente soluções para uso capilar (Solução de minoxidil 5%).

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

O medicamento manipulado pode ser preparado de acordo com uma prescrição médica (fórmula magistral), sendo específico às características individuais do utente, ou segundo uma farmacopeia ou formulário (preparado oficial), devendo sempre obedecer às boas práticas de preparação e aos requisitos aprovados pelo INFARMED, IP.

Sempre que se prepara um manipulado é preenchida uma ficha de preparação onde se regista toda a informação relativa à manipulação, incluindo o cálculo do preço de venda ao público (PVP) do manipulado. Esta ficha fica arquivada na farmácia durante 3 anos.

A possibilidade de preparação de manipulados na farmácia constitui mais uma forma de dar resposta às necessidades individuais dos utentes.

3.1.5. Formações pertinentes

Durante o estágio tive a oportunidade de assistir a algumas formações, nomeadamente de produtos de venda livre, o que contribuiu para a minha aquisição de conhecimentos ao nível deste tipo de produtos. Também as formações internas dadas pelas colegas da farmácia foram bastante úteis e elucidativas.

Todas as formações a que tive acesso, quer internas, quer externas à farmácia, permitiram-me adquirir uma maior independência na altura de aconselhar estes tipos de produtos.

3.1.6. Programa VALORMED

A VALORMED é uma sociedade, sem fins lucrativos, que tem como responsabilidade a gestão de resíduos de embalagens vazias e medicamentos fora de uso. É uma sociedade que surgiu do culminar da colaboração entre a Indústria Farmacêutica, Distribuidores e Farmácias, face à consciencialização da especificidade do medicamento enquanto resíduo. A recolha de medicamentos promovida pela VALORMED visa não só evitar a utilização incorreta dos medicamentos, mas também a proteção do meio ambiente, através de uma eliminação cuidada, atenta, adequada e específica de medicamentos (5). Quando o contentor de recolha dos medicamentos fica cheio, o mesmo é fechado, o boletim assinado, estando pronto para posterior recolha assegurada pelos colaboradores dos armazéns fornecedores dos medicamentos. O funcionário, por sua vez, também assina o

boletim levando consigo um e ficando o duplicado na farmácia, tendo o mesmo de permanecer arquivado durante 3 anos.

3.1.7. 4DigitalCare

O 4DigitalCare é um programa informático de gestão e organização utilizado ao nível da Farmácia Comunitária. Apresenta inúmeras funcionalidades, desde a gestão de utentes, a disponibilização de informação científica de medicamentos (link direto para o site do INFARMED), a realização, receção e conferência de encomendas, a gestão de devoluções, a gestão de stocks, o controlo de prazos de validade, a etiquetagem de produtos de venda livre, a organização e gestão de receituário, a gestão contabilística e financeira, entre outras. Na altura do atendimento, o *software* também permite realizar vários tipos de venda, desde venda sem participação, com participação e venda suspensa. Para além disso, a possibilidade de efetuar encomendas instantâneas a partir do 4DigitalCare, durante a dispensa de medicamentos, facilita a obtenção de informação sobre a disponibilidade do medicamento por parte do fornecedor, assim como prever o dia e hora da entrega. A Farmácia Cardona dos Santos tem como principal fornecedor a Cooprofar, seguindo-se a Empifarma, Plural e Magium Farma como principais alternativas. A Farmácia também faz encomendas a fornecedores diretos e grossistas, no caso de encomendas grandes (tais como encomendas anuais) para conseguir um desconto maior e outras regalias que lhe permitem fazer um PVP mais agradável ao utente e também algumas ofertas.

O programa 4DigitalCare é sujeito a constantes atualizações a fim de se garantir uma eficiente adaptação face às permanentes mudanças dos mais diversos níveis, destacando-se as alterações nos preços dos medicamentos, associadas a alterações persistentes nas participações e na informação científica disponibilizada.

Este programa é um enorme apoio para o farmacêutico e para as atividades diárias desenvolvidas na Farmácia.

Durante o estágio, o meu contato com o 4DigitalCare iniciou-se no setor das encomendas, onde adquiri conhecimentos relativos à preparação e receção de encomendas, o que me ajudou a familiarizar com o *software*.

Foi uma grande vantagem para mim não ter trabalhado com Sifarma, uma vez que já tive formação sobre o programa e, deste modo, fiquei a saber como funcionam ambos, o

que me concede uma vantagem e uma mais rápida adaptação caso seja empregada numa farmácia que não trabalhe com o Sifarma.

3.1.8. Farmácia nas Redes Sociais

A Farmácia Cardona dos Santos dispõe de uma página de Facebook onde divulga todas as campanhas e promoções, no sentido de se aproximar mais da população e, também conseguir ter uma visibilidade que somente o espaço físico não lhe permitiria. Desta forma, permite que qualquer pessoa acompanhe à distância as novidades existentes na farmácia, sendo também uma forma bastante útil de prestar diversos conselhos a aplicar na rotina diária. A utilização das redes sociais é uma forma de promoção de produtos e serviços farmacêuticos, podendo ser uma forma de publicidade com bastante relevância para a farmácia.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Pouco contato com a componente prática

Desde o início do estágio que senti algumas dificuldades ao contatar com esta nova realidade de estagiar numa farmácia comunitária.

A formação académica adquirida durante o MICF, através de um plano curricular completo, deu-me oportunidade de abordar várias áreas de atuação farmacêutica permitindo-me a aquisição de vastos e diversos conhecimentos que enriqueceram a minha formação. No entanto, com a realização deste estágio, apercebi-me que o desenvolvimento de estágios/formações durante o MICF, e não apenas no final do curso, seria uma mais-valia para a concretização deste estágio final, pois, apesar dos sólidos conhecimentos adquiridos nas várias unidades curriculares, não me senti totalmente autónoma na execução das tarefas. É então de salientar que um contato mais antecipado com o mercado de trabalho, nomeadamente farmácia comunitária, facilitaria a superação de algumas dificuldades sentidas neste estágio final, permitindo aliar a componente teórica da nossa formação à componente mais prática da realidade de uma farmácia.

A forma de abordagem do utente é bastante difícil e pouco instintiva. Falta-nos prática e destreza para conseguir organizar a informação dos conhecimentos adquiridos ao longo do curso e aplicá-la na devida altura. É algo que devia ser um pouco mais abordado,

pois para um atendimento assertivo e coerente é crucial que sejam feitas as perguntas certas e com a linguagem adequada a cada pessoa para conseguir retirar o máximo de informação sobre a situação clínica que preocupa o doente. Confrontada com esta situação, consigo ter uma opinião sobre a terapêutica de não-prescrição médica a instituir, mas tenho muita dificuldade em escolher o fármaco mais adequado às características individuais de cada um, bem como conciliar com possíveis terapêuticas adicionais.

A maioria dos doentes conhece a sua medicação pelo nome comercial, e não designação comum internacional (DCI) o que me levantou uma grande insegurança no atendimento. Ao ser confrontada pelo nome comercial fiquei muitas vezes perdida, sentindo necessidade de procurar no programa qual o princípio ativo para dar resposta às questões do doente, transmitindo falta de segurança ao mesmo. O tempo que estive a dar entrada de encomendas e, posteriormente, a guardar a medicação foi-me colmatando um pouco essa dificuldade, ajudando-me a associar o princípio ativo ao respetivo nome comercial dos medicamentos com mais saída na farmácia.

Quanto ao nível dos cuidados externos senti que os conhecimentos que tinha do MICF não eram, de todo, suficientes para um aconselhamento tendo a equipa técnica da Farmácia constituído uma mais-valia ao nível da minha formação no mundo da Dermofarmácia e Cosmética. Não só pela variedade de linhas ao dispor para aconselhamento, como também pela especificidade de cada cuidado para cada tipo de pele.

3.2.2. Seguimento farmacoterapêutico

No quotidiano de uma Farmácia, a monitorização terapêutica dos seus utentes nem sempre é uma realidade. Isto acontece por diversos motivos: há pessoas que não se fidelizam a uma farmácia, fazendo com que não haja um historial de medicação e, nem sempre, esta está disposta a conversar um pouco mais com o farmacêutico sobre qual é a medicação habitual e qual o motivo pela qual continua com essa terapêutica; também se pode dar o caso de o próprio farmacêutico não dispor de tanto tempo para o atendimento devido à afluência da farmácia. O farmacêutico, como profissional de saúde, tem o conhecimento e meios para intervir e promover a melhoria da qualidade de vida dos doentes, mas nem sempre o doente sai da farmácia com o devido acompanhamento na altura da dispensa dificultando a deteção de possíveis erros na terapêutica, principalmente devido aos motivos supracitados. Assim torna-se ainda mais difícil acompanhar a evolução da situação clínica e eficácia da terapêutica após a dispensa dos medicamentos.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Vendas Cruzadas

A aposta nas vendas cruzadas reflete-se num retorno financeiro significativo para a farmácia. Por exemplo, um doente com uma infeção urinária traz uma receita com um antibiótico. Se o farmacêutico achar pertinente, pode aconselhar uma vitamina C para acidificar a urina e um desinfetante de cuidado íntimo. O objetivo das vendas cruzadas é otimizar o conforto do doente e acelerar o processo de cura.

3.3.2. Estágios de verão

A realização de estágios de verão é uma ótima forma de nos envolvermos na atividade farmacêutica.

Ao longo do curso realizei dois estágios de verão em duas farmácias comunitárias diferentes que me deram uma noção do que se passa no dia-a-dia de uma farmácia. Apesar da curta duração dos estágios, o contacto com esta nova realidade deu-me a possibilidade de perceber como está organizada uma farmácia, qual a rotina, e o que é o verdadeiro quotidiano no outro lado do balcão. Durante estes dois estágios tive oportunidade de lidar com outros dois softwares de gestão e organização de uma farmácia (winPhar e SoftReis) o que me permitiu ter uma rápida capacidade de adaptação ao novo *software* encontrado na Farmácia Cardona dos Santos. Também foi mais fácil a realização de algumas tarefas, como dar entrada de encomendas, uma vez que já o tinha feito anteriormente, tendo sido apenas necessário relembrar alguns detalhes de maior importância.

Esta oportunidade que nós é dada é uma mais-valia e acho que devia ser mais aproveitada e incentivada pela própria faculdade, pois é uma maneira de aquisição de novos conhecimentos e competências com grande aplicabilidade no nosso futuro, uma grande vantagem na posterior realização do estágio curricular.

3.4. Ameaças

3.4.1. Medicamentos originais VS medicamento genéricos

Muitos utentes não entendem os conceitos de “genérico” e “marca” pelo que lhes cria alguma confusão terem que optar por um deles, sendo que antigamente “era o que

estava na receita”. Esta liberdade de escolha aparece agora pela prescrição por DCI da substância ativa. Este processo de escolha por vezes é influenciado pelo médico, que pode até dar indicação para não pedir genérico, como por exemplo, nalgumas situações em que o utente não reaja tão bem ao genérico ou por continuidade do tratamento, o que faz com que o utente ponha em causa a eficácia do mesmo. Esta problemática pode acabar por ameaçar a relação estabelecida com o farmacêutico, dada a incerteza gerada no utente.

3.4.2. Medicamentos LASA (*look-alike, sound-alike*)

Os medicamentos *look-alike, sound-alike* são medicamentos que se afiguram ou têm ortografia semelhante, ou contêm nome foneticamente similares o que cria confusão entre eles. Daqui podem surgir erros de medicação pela troca de medicamentos. Um erro destes pode surgir em qualquer etapa da utilização do medicamento: prescrição, administração, armazenagem ou dispensa.

O papel do farmacêutico, como último elo entre o medicamento e o doente, é fundamental para a deteção e prevenção deste tipo de erros.

Durante o meu estágio tive contacto com alguns medicamentos assim, o que me alertou para este tipo de situação. Durante o armazenamento percebi que, por exemplo no caso das pílulas, algumas caixas para um mês são iguais às de três meses ou que, para a mesma substância ativa, as diferentes dosagens têm a mesma aparência, sendo fácil trocá-las. De modo a diminuir a probabilidade de ocorrência destes erros de medicação, no aviamento de receitas, antes de concluir a venda, o programa 4DigitalCare, por ordem da diretora técnica, pede uma dupla verificação dos medicamentos, o que é uma ferramenta bastante útil para detetar possíveis trocas.

3.4.3. Alterações nos preços e comparticipações dos medicamentos

As constantes alterações nos preços dos medicamentos, das comparticipações e, muitas vezes, das regras de prescrição, constituem entraves na interação com o utente. Trata-se de um dos fatores que pode por em causa a relação dos utentes com os farmacêuticos e com as farmácias, uma vez que, por falta de conhecimento, muitas vezes atribuem a responsabilidade destas alterações às próprias farmácias. Nestes casos, tem de se

saber lidar com a situação e explicar, de forma credível e coerente, as verdadeiras razões que levam às oscilações de preços dos medicamentos e valores das participações.

Estas oscilações deixam os doentes desconfortáveis e duvidosos com a situação, criando uma desconfiança/perda de credibilidade pela não correspondência dos valores, o que acaba por dificultar o diálogo que se estabelece com eles e o pleno desempenho das nossas funções.

4. Caso Clínico

Um adolescente, cerca de 17 anos, atleta, desloca-se à farmácia. Indica que sente bastante comichão nos dedos dos pés, apresentando estado descamativo entre os dedos.

Após a observação da situação e depois de ter percebido que o jovem está frequentemente em provas e a usar balneários públicos, por vezes sem chinelos, depreendi que se tratava de uma situação de pé de atleta (6).

O pé de atleta é um problema de pele bastante incómodo e difícil de eliminar. É causada por fungos e, através de um tratamento adequado e com persistência, é uma situação passível de ser resolvida. Ocorre tipicamente entre os dedos dos pés, mas pode também aparecer na sola e nas partes laterais do pé, apresentando como principal sintoma o prurido. Pode também aparecer vermelhidão, inflamação e descamação com a sensação de ardor, especialmente entre os dedos. O pé de atleta é altamente contagioso, quer por contato direto ou indireto em superfícies contaminadas.

De entre os tratamentos possíveis, aconselhei o uso de Canespor® creme (7), um antifúngico cutâneo indicado para o tratamento local de várias infeções fúngicas da pele. Indiquei que deveria aplicar o creme uma vez por dia, de preferência à noite, na zona a tratar, numa cama fina e após lavar muito bem a zona a tratar. É de extrema importância que, antes da aplicação do creme e depois da lavagem, a pele esteja completamente seca pois ambientes húmidos proporcionam o desenvolvimento de fungos. O tratamento deve ser mantido até, pelo menos, mais uma semana após o desaparecimento total dos sintomas. De forma a complementar o tratamento, recomendei a pulverização dos sapatos com pó antifúngico, como o da School®.

Défices Congénitos da Glicosilação: alguns casos, diagnóstico e tratamento

As roupas que tiveram contato devem ser lavadas a 60°C, e recomenda-se calçar meias antes de vestir o resto da roupa para evitar a contaminação de mais zonas.

Após o tratamento, é importante assegurar a sua prevenção. O desenvolvimento do fungo pode ser prevenido através de medidas como: andar descalço em balneários públicos, chuveiros e piscinas; manter os pés arejados; mudar diariamente de meias; evitar a troca de sapatos e roupas com outras pessoas; mudar com frequência o calçado e pulverizá-lo com antifúngicos em pó.

5. Conclusão

Este estágio foi extremamente enriquecedor para o meu futuro profissional. Na Farmácia Cardona dos Santos tive oportunidade de participar ativamente em praticamente todas as tarefas desempenhadas pelos farmacêuticos, podendo verificar o verdadeiro desafio que é trabalhar numa Farmácia.

A atividade desenvolvida nas farmácias envolve muito mais que a dispensa de medicamentos, requer profissionais competentes e proativos de modo a prestarem um correto acompanhamento dos utentes e a responderem de forma adequada e eficaz às suas necessidades. Todos os dias, o farmacêutico é confrontado com novas situações que põem à prova os seus conhecimentos e a sua capacidade de resolução de problemas.

É responsabilidade de cada farmacêutico acrescentar valor à prática farmacêutica. Só a partir do momento que o farmacêutico se afirma como o melhor profissional de saúde em termos do conhecimento acerca do medicamento é que os doentes vão reconhecer o seu valor. Para se alcançar a conquista deste reconhecimento, é fundamental apostar na formação. A especialização dos farmacêuticos resulta num aconselhamento mais personalizado e com maior qualidade.

Bibliografia

- (1) <http://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/> acedido a 19 de Agosto de 2017
- (2) https://dre.pt/web/guest/legislacao-consolidada/-/lc/67553791/201704022143/exportPdf/normal//cacheLevelPage?_LegislacaoConsolidada_WAR_drefrontofficeportlet_rp=indice acedido a 17 de Agosto de 2017
- (3) http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/medicamentos_a_base_de_plantas acedido a 17 de Agosto de 2017
- (4) http://www.infarmed.pt/web/infarmed/infarmed?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_returnToFullPageURL=%2F&_101_assetEntryId=1487057&_101_type=content&_101_urlTitle=medicamentos-manipulados&inheritRedirect=false&redirect=http%3A%2F%2Fwww.infarmed.pt%2Fweb%2Finfarmed%2Finfarmed%3Fp_p_id%3D3%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_state%3Dmaximized%26p_p_mode%3Dview%26_3_redirect%3D%252F%26_3_keywords%3DMANIPULADOS%26_3_groupId%3D15786%26_3_struts_action%3D%252Fsearch%252Fsearch acedido a 17 de Agosto de 2017
- (5) <http://www.valormed.pt/pt/conteudos/conteudo/id/5> acedido a 17 de Agosto de 2017
- (6) <https://www.dermnetnz.org/topics/athletes-foot/> acedido a 19 de Agosto de 2017
- (7) http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=5843&tipo_doc=fi acedido a 19 de Agosto de 2017