



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Ana Catarina Gonçalves Amado

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Utilização de biossensores na deteção precoce da Doença de Alzheimer” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação do Dr. João Maia e do Professor Doutor Ricardo António Esteves de Castro e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Julho de 2021



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Ana Catarina Gonçalves Amado

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Utilização de biossensores na deteção precoce da Doença de Alzheimer” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação do Dr. João Maia e do Professor Doutor Ricardo António Esteves de Castro e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Julho de 2021

Eu, Ana Catarina Gonçalves Amado, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2015239196, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Utilização de biossensores na deteção precoce da Doença de Alzheimer” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 13 de julho de 2021.

Ana Catarina Gonçalves Amado  
(Ana Catarina Gonçalves Amado)

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, os meus grandes pilares, pelo apoio incondicional em todas as etapas da minha vida. Obrigado pelo esforço, dedicação e educação. Obrigado por acreditarem em mim e me ajudarem a perseguir os meus sonhos. Não há palavras suficientes que traduzam a gratidão que sinto.

Aos meus amigos, por dividirem todos os momentos comigo, os bons e os menos bons. O vosso apoio e a vossa presença foram absolutamente essenciais. Obrigado por tornarem esta caminhada mais especial e inesquecível.

A toda a equipa da Farmácia Machado, Dr. João Maia, Dr. João Teixeira, Dra. Mariana Lopes, Dra. Rita Garrett e Sr. Eduardo Cruz, pela amabilidade com que me receberam, pela atenção com que me transmitiram os seus ensinamentos e pela amizade. Obrigado por terem marcado de forma tão positiva o meu percurso.

Ao meu orientador, Professor Doutor Ricardo António Esteves de Castro, pela disponibilidade demonstrada durante a realização deste documento.

Obrigada!

## ÍNDICE

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

Lista de Abreviaturas .....	7
1. Introdução.....	8
2. Contextualização da Farmácia Machado .....	9
3. Análise SWOT .....	10
3.1 Pontos Fortes.....	10
3.2 Pontos Fracos .....	14
3.3 Oportunidades.....	16
3.4 Ameaças .....	18
4. Casos Clínicos.....	20
5. Considerações finais .....	22
6. Bibliografia.....	23

### PARTE II – MONOGRAFIA INTITULADA "UTILIZAÇÃO DE BIOCENSORES NA DETECÇÃO PRECOCE DA DOENÇA DE ALZHEIMER"

Resumo .....	25
<i>Abstract</i> .....	26
Lista de Abreviaturas .....	27
1. Introdução.....	29
2. Doença de Alzheimer.....	30
2.1 Fases da doença e características clínicas.....	30
2.2 Fisiopatologia.....	31
2.3 Diagnóstico.....	33
3. Biomarcadores .....	34
3.1 Biomarcadores no LCR .....	35
3.2 Biomarcadores imagiológicos.....	36
3.3 Biomarcadores no sangue .....	36
4. Biossensores .....	37
4.1 Aplicação de biossensores na doença de Alzheimer .....	39
4.1.1 Biossensores para deteção de A $\beta$ .....	39
4.1.2 Biossensores para deteção de tau .....	40
4.1.3 Biossensores para deteção de ApoE.....	41
5. Biossensores <i>versus</i> Métodos Convencionais.....	42
6. Perspetivas Futuras .....	43
7. Considerações Finais .....	44
Bibliografia .....	46

## **PARTE I**

# **RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA**

## **FARMÁCIA MACHADO**



## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**ANF** - Associação Nacional de Farmácias

**ARS Centro** - Administração Regional de Saúde do Centro

**CHUC** - Centro Hospitalar Universitário de Coimbra

**COVID-19** - Doença do Coronavírus

**FM** - Farmácia Machado

**IMC** - Índice de Massa Corporal

**IPO** - Instituto Português de Oncologia

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

**MSRM** - Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

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

## I. INTRODUÇÃO

O Farmacêutico, vulgarmente conhecido como o profissional do medicamento, desempenha um papel ativo em todas as fases do seu ciclo de vida, que vai desde a investigação e desenvolvimento até ao momento da dispensa. Com efeito, existem uma série de áreas profissionais onde o farmacêutico pode desempenhar atividade.

A Farmácia Comunitária representa a área de atuação do farmacêutico com maior exposição. Refere-se ao local a que os utentes recorrem, frequentemente, em primeiro lugar no que respeita a problemas de saúde, pela disponibilidade e proximidade que reconhecem aos seus profissionais. Estes, por serem altamente qualificados, têm aptidões que lhes permitem atuar tanto ao nível da terapêutica como da prevenção.

Nos dias que correm, e embora o medicamento continue a constituir o núcleo da sua atividade, o farmacêutico comunitário presta uma larga variedade de serviços à população, promovendo a literacia em saúde e um estilo de vida saudável.

Graças à sua extensa formação académica consegue evitar deslocações desnecessárias a unidades de saúde ou encaminhar os utentes para as mesmas sempre que se manifeste necessário. Neste sentido, a Farmácia Comunitária constitui um valioso apoio do Sistema Nacional de Saúde, sendo reconhecido aos seus profissionais um importante contributo na área da Saúde Pública. <sup>1</sup>

O primeiro passo para aceder à profissão concerne ao ingresso no Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, onde os estudantes têm acesso a uma formação multidisciplinar. Esta passagem pelo ensino superior culmina com a realização do Estágio Curricular, que representa um momento de consolidação da componente teórica com a componente prática e uma importante oportunidade para os estudantes adquirirem conhecimentos que os apoiam na transição do meio académico para o meio profissional.

O presente relatório de estágio, redigido sob forma de análise de **SWOT** (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), visa a redação de uma breve análise àquela que foi a minha experiência enquanto estagiária. Após apresentar e contextualizar a Farmácia Machado, local escolhido por mim para a realização do Estágio Curricular em Farmácia Comunitária, são abordados os fatores internos (Pontos Fortes e Pontos Fracos) e os fatores externos (Oportunidades e Ameaças).

## 2. CONTEXTUALIZAÇÃO DA FARMÁCIA MACHADO

A Farmácia Machado (FM), localizada na Rua Bernardo Albuquerque 8C, em Coimbra, foi fundada em 1917 e a sua propriedade foi passando entre diferentes gerações de Farmacêuticos da mesma família. Contando com mais de 100 anos de história, é uma farmácia que prima pela disponibilidade e preocupação com a saúde e bem-estar dos seus utentes.

A sua equipa é constituída por quatro farmacêuticos – Dr. João Maia, Dr. João Teixeira, Dra. Mariana Lopes, Dra. Rita Garrett – e um auxiliar de farmácia – Sr. Eduardo Cruz. A direção é assumida pelo Dr. João Maia, que é simultaneamente o proprietário.

Relativamente ao horário de funcionamento, este vigora das 8h às 21h nos dias úteis e das 9h às 13h aos sábados. O horário habitual é estendido nos dias em que se realiza serviço permanente. Em dia de serviço, a farmácia permanece aberta de forma ininterrupta desde a hora de abertura habitual até à hora de encerramento do dia seguinte. Estes serviços funcionam em regime rotativo entre as farmácias e ocorrem em intervalos de 20 dias. A escala de serviços da região é disponibilizada pela Administração Regional de Saúde do Centro (ARS Centro) no mês de dezembro.

Além da dispensa de medicamentos e aconselhamento farmacêutico, a FM presta uma larga variedade de serviços de saúde à população, de onde se destaca a medição de parâmetros bioquímicos como glicémia, pressão arterial, peso, índice de massa corporal (IMC), colesterol total, e triglicéridos. Existe ainda disponível o serviço de administração de vacinas não incluídas no Plano Nacional de Vacinação.

Em resultado de uma parceria com a Farmodiética, inserida no programa EasySlim, a farmácia dispõe, semanalmente, de consultas de nutrição, realizadas por uma nutricionista. De forma a sustentar os planos alimentares traçados, a FM possui uma multiplicidade de produtos EasySlim que podem ser adquiridos pelos utentes. Pontualmente, é proporcionada a possibilidade de realização, de forma gratuita, de rastreios auditivos e sessões de aconselhamento dermocosmético personalizado com profissionais que representam diferentes marcas de cosmética.

No atual contexto de pandemia da doença do coronavírus (Covid-19), além da possibilidade de contacto via telefónica e *e-mail* já existentes anteriormente, a FM passou a realizar entregas ao domicílio, garantindo a continuidade de um serviço de saúde próximo, sem que os utentes sentissem necessidade de se colocarem em situações de risco.

### 3. ANÁLISE SWOT

#### 3.1 PONTOS FORTES

##### **Integração na equipa de farmacêuticos**

O trabalho em equipa é um fator determinante na qualidade de prestação de qualquer serviço. Quando o trabalho individual de cada colaborador é colocado ao serviço de objetivos comuns, os resultados obtidos são comprovadamente melhores. No dia a dia de uma Farmácia Comunitária a comunicação entre os vários colaboradores releva-se fundamental.

Durante o meu estágio tive o privilégio de ser acolhida por uma equipa dinâmica e empenhada, que me fez sentir integrada desde o primeiro dia. O Estágio curricular é o momento de transposição dos conhecimentos teóricos para a prática, pelo que integrar uma equipa maioritariamente constituída por farmacêuticos revelou-se um aspeto muito positivo para a minha aprendizagem.

No início, as minhas funções eram, fundamentalmente, rececionar encomendas e arrumar os produtos no respetivo lugar, permitindo familiarizar-me com o espaço. Nesta fase, em que apenas tinha contacto com as atividades de *backoffice*, aprendi a desempenhar diversas tarefas, entre elas a realização de devoluções, regularização de notas de crédito, controlo de *stock* físico, e de prazos de validade. Desde cedo fui encorajada a assistir a atendimentos sempre que existia oportunidade. A observação da postura dos farmacêuticos a cada atendimento constituiu uma base importante de aprendizagem, na medida em que adquiri ferramentas e conhecimentos, inclusivamente acerca do módulo de atendimento do Sifarma2000<sup>®</sup> que, mais tarde, se vieram a revelar extremamente úteis.

O facto de a atribuição de tarefas ter sido feita de forma lógica e gradual, aliado à amabilidade da equipa da FM, que me colocou sempre à vontade para participar de forma ativa e expor todas as minhas dúvidas, foi de extrema relevância no alcance da segurança e à vontade necessários para a posterior realização de atendimentos.

No decorrer dos primeiros atendimentos e sempre que existia alguma situação nova, destaco a atenção com que os elementos da equipa se disponibilizavam para acompanhar os estagiários, transmitindo os seus ensinamentos com o maior cuidado.

## **Localização da farmácia**

A Farmácia Machado, localizada numa área privilegiada da cidade de Coimbra, beneficia da proximidade a Hospitais – Centro Hospitalar e Universitário da Universidade de Coimbra (CHUC), Hospital Pediátrico, Maternidade Bissaya Barreto e Instituto Português de Oncologia (IPO) –, clínicas de saúde privadas, instituições de ensino e superfícies comerciais. Esta é simultaneamente uma zona residencial, pelo que conta tanto com os muitos utentes habituais, como alguns meramente circunstanciais.

Geralmente, a proximidade à habitação ou local de trabalho contribuem para que a população se desloque de forma recorrente à farmácia, mas é graças à infindável dedicação e disponibilidade da sua equipa, que a FM possui um leque alargado de utentes fidelizados. A fidelização dos utentes permite o registo dos seus dados bem como do histórico de medicamentos, proporcionando à equipa a realização de um acompanhamento terapêutico mais próximo e eficaz.

Considerando o contexto social e económico em que se insere, o espectro de utentes que recorre à Farmácia Machado apresenta discrepâncias tanto no que respeita à faixa etária e ao nível de literacia, como ao poder de compra. O facto de a população que frequenta a FM ser muito heterogénea constituiu uma vantagem no meu estágio. A oportunidade de contactar com atendimentos diversos, proporcionou-me as ferramentas necessárias para adequar o atendimento a cada pessoa e a situações específicas e demonstrou-me a importância de estabelecer uma relação de confiança entre o farmacêutico e os utentes.

## **Organização da farmácia**

Na fase inicial do estágio, a organização da FM foi um importante apoio na familiarização com o espaço, tornando mais fácil a tarefa de perceber qual o local destinado a cada produto.

Na zona de atendimento, os produtos expostos ou guardados em gavetas destinadas a esse fim, correspondem, como é habitual, a Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM). Na zona interior da farmácia, armazenam-se tanto MNSRM como Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM). Aqui encontra-se uma área principal de armazenamento, onde existe um armário com gavetas devidamente identificadas. As gavetas organizadas por ordem alfabética destinam-se a todos os tipos de comprimidos e cápsulas, as restantes estão divididas em diferentes categorias: pomadas/cremes, soluções cutâneas, produtos oftálmicos, produtos de aplicação nasal, xaropes e pós para solução oral, colutórios, saquetas,

supositórios/produtos vaginais, e medicamentos psicotrópicos. Perto desta zona existe ainda uma outra, onde se colocam os restantes produtos, como compressas, adesivos, pensos, e emplastros medicamentosos.

Na realização dos primeiros atendimentos, o facto de se encontrarem MSRM e MNSRM no mesmo local criava algumas dúvidas quanto ao facto de o medicamento poder ser dispensado ou não. No entanto, com o tempo, este revelou ser um método extremamente organizativo e eficaz.

### **Protocolo com a Liga Portuguesa Contra o Cancro**

A Farmácia Machado celebra um protocolo com a Liga Portuguesa Contra o Cancro – Núcleo Regional do Centro, a partir do qual a FM se compromete a dispensar os medicamentos aos utentes sem que estes tenham de os pagar.

O utente quando se dirige à farmácia faz-se acompanhar de uma Ficha de Referenciação assinada por uma Assistente Social, onde se incluem os dados do utente e a medicação que deve ser cedida ao mesmo. No final do atendimento, o valor é colocado a crédito e o utente tem de assinar a fatura correspondente. Essa fatura é arquivada juntamente com a Ficha de Referenciação do Utente e uma cópia da(s) receita(s).

Aquando do confinamento a que o país foi sujeito, este procedimento sofreu algumas alterações, uma vez que os colaboradores da Liga Portuguesa Contra o Cancro passaram a estar em teletrabalho. Assim, os utentes impossibilitados de se dirigirem ao gabinete para adquirir a Ficha de Referenciação, deviam informar que esta tinha sido enviada por *e-mail*. Nos casos em que o utente se dirigia à FM e o documento não se encontrava no e-mail, o pedido do mesmo era feito por via telefónica, garantindo que a dispensa dos medicamentos não ficava comprometida.

No início de cada mês, um responsável da Liga Portuguesa Contra o Cancro – Núcleo Regional do Centro, entra em contacto com o Diretor Técnico da farmácia, a fim de regularizar o valor acumulado respeitante ao mês anterior.

O objetivo deste protocolo consiste em apoiar doentes oncológicos com dificuldades económicas na obtenção de todos os produtos que necessitem sem colocar em causa a terapêutica prescrita.

## **Funcionalidades do Sifarma2000®**

O Sifarma é um sistema informático idealizado para apoiar as tarefas de gestão e atendimento que compõem o dia a dia de uma farmácia. Utilizado pela grande maioria das Farmácias Comunitárias em Portugal, é uma ferramenta extremamente relevante na prestação de um serviço de qualidade e o mais centrado possível no utente.

A Farmácia Machado pertence ao grupo de Farmácias Portuguesas da ANF, como tal utiliza o Sifarma2000®. Este é um *software* que à primeira vista parece pouco intuitivo, mas quando familiarizados com o mesmo, podemos confirmar as imensas vantagens que acarreta. Permite controlar os produtos desde que entram na farmácia até à sua saída e as funcionalidades mais relevantes, sobretudo para um estagiário, são a ficha de produto e a ficha de utente. A ficha do produto apresenta vários separadores, incluindo um, particularmente útil no atendimento, onde se podem consultar informações científicas sobre os produtos, como as indicações terapêuticas, contraindicações, reações adversas, composição qualitativa e quantitativa, e posologia. A ficha do utente, por sua vez, apresenta os dados e o histórico medicamentoso do utente, capacitando o estagiário para a realização do atendimento com maior autonomia.

A FM possui também o novo módulo de atendimento do Sifarma, que se apresenta com uma imagem mais apelativa e novas funcionalidades. Por se tratar de um projeto em desenvolvimento revela ainda algumas lacunas, o que faz com que a equipa continue a dar preferência à utilização do *software* mais antigo.

O novo módulo de atendimento apareceu com o objetivo de simplificar o processo de atendimento e torná-lo mais rápido. É expectável que, em breve, este venha a substituir o Sifarma2000®. Neste sentido, e embora tenha utilizado maioritariamente o Sifarma2000®, a oportunidade de conhecer e contactar com este novo sistema edificou um aspeto de destaque.

## **Programa de recolha de medicamentos ValorMed**

A ValorMed, estabelecida em 1999, é uma sociedade sem fins lucrativos que se compromete com a gestão dos resíduos de embalagens vazias e medicamentos que tenham caído em desuso. Esta sociedade resulta de uma colaboração entre a indústria farmacêutica, distribuidores farmacêuticos, e farmácias comunitárias.<sup>2</sup>

Nos últimos anos, os problemas ambientais tornaram-se uma realidade e os efeitos negativos que o aumento nos níveis de poluição acarreta para a saúde são notáveis e alarmantes. A consciencialização da população para a necessidade de preservação do meio

ambiente converteu-se, portanto, num assunto emergente. Neste sentido, os objetivos da ValorMed são cada vez mais valorizáveis, sendo a sua principal missão, garantir que os medicamentos e as embalagens não se tornam em apenas outro resíduo indiferenciado.

A recolha destes produtos acontece nas Farmácias Comunitárias, como é o caso da FM, onde se encontram contentores destinados a esse fim. Quando estes contentores estão cheios, são recolhidos pelos distribuidores e posteriormente encaminhados para os locais adequados.

## **3.2 PONTOS FRACOS**

### **Medicamentos manipulados**

De acordo com o INFARMED, Medicamentos Manipulados são “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico”.<sup>3</sup>

A preparação oficial de medicamentos ou substâncias medicamentosas era a função principal do farmacêutico aquando do surgimento da profissão. Ao longo dos anos esta prática foi-se tornando menos rotineira e o farmacêutico passou a desempenhar um amplo leque de atividades.

Atualmente, a preparação de medicamentos manipulados continua a ser uma realidade devido à necessidade de adequação da terapêutica a um utente em particular ou devido à curta estabilidade de algumas substâncias, que exigem que a preparação seja feita no momento da utilização do medicamento.

Na FM, embora disponha de um laboratório de pequenas dimensões, a preparação de manipulados não se verifica, pelo que não tive oportunidade ao longo do meu estágio de contactar com esta realidade. As oportunidades que tive que mais se aproximaram à preparação de um manipulado foi a reconstituição de soluções extemporâneas.

### **Erros de stock**

O termo *stock* refere-se à quantidade de produto que se encontra armazenado na farmácia. No processo de receção de uma encomenda os produtos são introduzidos no sistema informático Sifarma2000® e retirados do mesmo quando, no atendimento, se conclui uma venda. Desta forma, é possível uma atualização constante dos *stocks*.

O que acontece algumas vezes é que o *stock* do sistema não corresponde ao *stock* físico. Esta situação é perceptível durante os atendimentos, quando é requerido um medicamento que segundo o sistema existe na farmácia, mas não é encontrado.

Existem, geralmente, duas razões para esta situação, que são o medicamento estar indevidamente arrumado ou tratar-se de um erro de *stock*. Na FM, quando se deteta um erro de *stock*, procede-se à segregação informática da ficha do produto, permitindo a correção do erro de forma massiva, se necessário. Esta prática permite uma regularização mais rápida e eficaz do problema.

Se o utente necessitar do medicamento no imediato tem de se deslocar a outra farmácia, caso contrário, é feita uma encomenda instantânea para os principais fornecedores da FM, de modo, a recebê-la o mais rápido possível, e o utente regressa mais tarde para o recolher. Em ambos os casos, a situação releva-se incomoda para os utentes.

Apesar da tática referida anteriormente e de um controlo regular dos *stocks*, pude constatar, ao longo do meu estágio, que é algo que continua a acontecer pontualmente e deve tentar evitar-se ao máximo.

## **Puericultura e Maternidade**

A Farmácia Machado dispõe de uma reduzida gama de produtos destinados a bebés, crianças e grávidas. De entre os produtos disponíveis destacam-se os que se destinam aos cuidados da pele e higiene oral.

Esta escassez pode justificar-se com o alastramento destes produtos a outros estabelecimentos de venda, que levou a um decréscimo da sua procura em Farmácia Comunitária. Outra das razões, prende-se com o espetro de idades dos utentes que recorrem à FM, que são maioritariamente estudantes e pessoas de idade avançada.

Sempre que algum produto que a farmácia não tinha em *stock* era solicitado, a solução passava pela realização de uma encomenda aos fornecedores e o utente ia buscar mais tarde, se assim o desejasse.

Durante o estágio, constatei que os pedidos de aconselhamento nestas áreas são raros e que muitas vezes, devido ao excesso de publicidade, os utentes se dirigem à farmácia com ideias pré-concebidas. Este não é um caso isolado, o mesmo acontece no campo da dermofarmácia e cosmética, sobretudo no que respeita às camadas mais jovens. O fácil acesso à informação, sobretudo na *internet*, faz com que muitas vezes se dirijam à farmácia para

adquirir um produto específico e fiquem céticos quanto ao aconselhamento de outros, mesmo que estes sejam semelhantes.

### **3.3 OPORTUNIDADES**

#### **Filosofia Kaizen**

O conceito *Kaizen* (*kai* = mudar, *zen* = melhor) surgiu no Japão, em 1986, com a publicação do livro “*Kaizen: the key to Japan’s competitive success*”, da autoria de Masaaki Imai. Trata-se de um método de gestão que pretende evitar o desperdício e alcançar um serviço de qualidade através de melhorias contínuas. Esta filosofia defende que a obtenção de resultados pressupõe o envolvimento de toda a equipa.<sup>4</sup>

Na FM este método foi implementado a 12 de julho de 2018, através do serviço de Consultoria da *Glintt*. Esta empresa disponibiliza uma Consultora que realiza um diagnóstico e traça um projeto para a farmácia. A monitorização dos resultados é feita através de visitas periódicas.

De modo a tornar a informação acessível a toda a equipa e ajudar no seu desempenho, foi criado um quadro dividido em várias secções, onde se registam alguns dados pertinentes como a calendarização das atividades, indicadores, sugestões de melhoria, as tarefas designadas a cada um dos membros, entre outras. Aquando das visitas da Consultora realiza-se uma reunião junto ao quadro *Kaizen*, dirigida sempre por alguém da equipa da farmácia, com vista à análise conjunta dos dados registados até à data.

Em janeiro de 2021, a FM renunciou ao serviço de consultoria da empresa em questão. Contudo, os fundamentos desta filosofia continuam a ser aplicados na farmácia, pelas repercussões positivas que esta teve no seu funcionamento.

No início do estágio foi feita uma breve apresentação teórica do método e, posteriormente, tive oportunidade de participar ativamente, inclusive através da condução de uma das reuniões. O contacto com a filosofia *Kaizen* representou uma mais-valia na aquisição de conhecimentos sobre a gestão de uma farmácia, na medida em que ensina a rentabilizar o espaço e os recursos, a tornar a resolução de eventuais problemas mais rápida, e a importância do trabalho em equipa, tudo isto com vista ao aumento da produtividade.

## **Dispensa de medicamentos hospitalares em farmácia comunitária**

A implementação do estado de emergência no país, no seguimento da atual pandemia por COVID-19, determinou a limitação da circulação de pessoas na via pública, enquanto medida fundamental para minimizar a transmissão do vírus.

De forma a possibilitar o acesso aos medicamentos, sem que os doentes tenham de se colocar numa situação de maior exposição, pela necessidade de deslocação à Farmácia Hospitalar, o Ministério da Saúde emitiu o Despacho n.º 4270-C/2020, de 7 de abril, que determina "medidas de carácter excecional e temporário de fornecimento de medicamentos dispensados por farmácia hospitalar em regime de ambulatório, a pedido do utente, através da dispensa em farmácia comunitária ou da entrega dos medicamentos o domicílio".<sup>5</sup>

Ao nível da farmácia comunitária, a dispensa é feita exclusivamente por farmacêuticos, que se encarregam de verificar, junto do utente, se existiu algum tipo de reação adversa ou interação medicamentosa associada à toma do medicamento. O registo da dispensa é realizado no SifarmaClínico, uma plataforma que permite a partilha de informação entre a farmácia e as Unidades de Saúde.

Ao longo do meu estágio pude constatar que existe um número considerável de pessoas a beneficiar desta medida, tendo tido a oportunidade de presenciar várias vezes a dispensa de medicamentos hospitalares na FM.

## **Formações complementares**

Os delegados de informação médica deslocam-se às farmácias de forma regular, para apresentação de novos produtos ou para reforçar a informação disponível sobre produtos já existentes. Estas formações representam uma oportunidade de complementaridade e consolidação de conhecimentos, que se revelam significativos no momento do aconselhamento dos produtos.

Ao longo do meu estágio, as oportunidades de presenciar estas formações foram escassas, pois as visitas dos delegados, devido à atual pandemia da Covid-19, passaram a ser muito raras e em alguns casos inexistentes. Houve, ainda assim, a possibilidade de colmatar esta falha com a realização de algumas formações *online*.

### 3.4 AMEAÇAS

#### Medicamentos esgotados

Ao longo de todo o estágio foram várias os momentos em que me deparei com situações de medicamentos esgotados. A primeira vez que tive esta percepção foi na receção de encomendas, através da lista de medicamentos esgotados que surge no final das faturas dos fornecedores. Numa fase posterior, ao nível do atendimento, era recorrente surgirem prescrições de medicamentos nesta condição. Por vezes, os utentes deslocavam-se à farmácia apenas para questionar se tínhamos determinado medicamento em *stock* ou se estava disponível em algum dos fornecedores, pois já tinham feito tentativas em outras farmácias.

Nos casos em que se trata de medicação destinada ao tratamento de doenças crónicas esta situação torna-se particularmente preocupante, uma vez que a terapêutica não pode ser interrompida. Sempre que possível são apresentadas, ao utente, alternativas ao medicamento indisponível. Existem, contudo, alguns casos em que não há medicamentos terapêuticamente equivalentes.

Uma das razões que explicam esta indisponibilidade sistemática é o fenómeno denominado “exportação paralela”. A descida do preço dos medicamentos verificada, nos últimos anos, em Portugal, impulsionou a sua exportação para a Europa. O facto de a renumeração ser mais vantajosa no mercado europeu, faz com que a exportação seja prioritária em relação à reposição dos *stocks* a nível nacional.

O INFARMED tem procurado arranjar soluções para este problema, de onde resultou a criação da Via Verde do Medicamento. Nestas circunstâncias, a encomenda do medicamento é realizada a partir de uma receita válida, de modo a encurtar o tempo que decorre entre a realização do pedido e a sua receção.

Para além da razão já apontada, a falta de medicamentos pode dever-se também a dificuldades ao nível da produção, pelo que não existe uma solução ideal, que permita que este problema se resolva na totalidade.

A situação, geralmente, não é tão caótica quanto pode parecer, mas constitui um entrave ao bom funcionamento da farmácia, que nada pode fazer por se tratar de um fator externo, e causa constrangimentos aos utentes, que têm alguma dificuldade em compreender.

## **Contexto de pandemia por COVID-19**

A atual pandemia provocada pelo vírus SARS-CoV-2 obrigou à adoção de diversas medidas de proteção. Na FM para além do uso obrigatório de máscara e da desinfeção das mãos, as medidas adotadas compreenderam a colocação de acrílicos nos balcões de atendimento, limitação do número de pessoas no interior da farmácia, bem como a limpeza e desinfeção constante dos espaços. Embora necessárias, algumas destas medidas, constituíram uma barreira na comunicação com os utentes, pela dificuldade que estes sentiam em se expressar e ouvir corretamente. No caso de um estagiário, este obstáculo é exacerbado pela falta de experiência.

O início do meu estágio coincidiu com uma fase em que a pandemia parecia estar controlada em Portugal, havendo, por isso, um alívio das restrições impostas. Embora o estágio tenha decorrido na sua maioria nestas circunstâncias, os últimos meses foram marcados pelo crescimento abrupto do número de casos de infeção e o consequente confinamento. Por esta altura, a FM decidiu redobrar as medidas, passando os seus colaboradores a trabalhar em duas equipas distintas, nas quais os estagiários foram integrados de forma equitativa. Uma equipa desempenhava funções no turno da manhã e a outra no turno da tarde, em regime rotativo. O objetivo era garantir que, em caso de infeção de algum elemento de uma das equipas, existisse outra apta a dar continuidade à atividade da farmácia.

Apesar dos obstáculos sentidos, foi um privilégio integrar uma equipa de profissionais que se manteve na linha da frente e contribuir na prestação de cuidados de saúde à população, acautelando o acesso à medicação e equipamentos de proteção individual, bem como aconselhamento a quem necessitasse. Durante este período de grande incerteza, foi recorrente a deslocação dos utentes à farmácia em busca de esclarecimentos acerca da Covid-19, numa tentativa de amenizar a ansiedade que a situação impôs. Esta procura veio confirmar a confiança que os utentes sentem nos farmacêuticos comunitários.

Por último, realçar o esforço e a capacidade de adaptação da equipa da FM neste período tão atribulado, garantindo sempre a segurança dos seus utentes e colaboradores, sem nunca descuidar de um serviço de excelência.

## 4. CASOS CLÍNICOS

### Caso Clínico I

Indivíduo do sexo masculino, com cerca de 40 anos, dirige-se à farmácia descrevendo sintomas que pensa estarem relacionados com os excessos alimentares decorrentes das épocas festivas, Natal e Passagem de ano. Os sintomas descritos pelo utente dizem respeito a desconforto abdominal, má disposição e flatulência.

O utente questiona se a toma de probióticos é indicada no seu caso, porque um amigo lhe disse que tinha tomado numa situação idêntica e tinha melhorado. Após verificar que não existiram episódios de diarreia, considerei a sua toma era desnecessária, uma vez que o objetivo principal seria o alívio dos sintomas descritos.

Os comprimidos Kompensan<sup>®</sup> Trieffect contém carbonato de di-hidróxido de alumínio e sódio e dimeticone, sendo eficazes no alívio dos sintomas descritos pelo utente. Assim, aconselho a toma de 1 a 2 comprimidos para chupar no intervalo ou após as refeições.<sup>6</sup> Reforço a importância da adoção de algumas medidas não farmacológicas como a não ingestão de álcool, a restrição de alimentos gordos e muito condimentados e a realização de várias refeições leves ao longo do dia.

### Caso Clínico II

Senhora, com idade compreendida entre os 30 e 35 anos, queixa-se de vontade frequente em urinar e desconforto. Refere que se recorda de uma vez ter tomado Fosfomicina Monuril<sup>®</sup>, um antibiótico indicado no tratamento de infeções urinárias, mas que esta não é uma situação recorrente. Embora os sintomas fossem ligeiros, a utente demonstra receio em que estes sejam decorrentes de uma infeção urinária. Neste sentido, questiona se existe algum produto que seja eficaz na prevenção.

Após confirmar que se trata de uma utente saudável e que não existem contra-indicações, aconselho a toma de Cistisil<sup>®</sup>, um suplemento alimentar composto por Arando Vermelho (*Vaccinium macrocarpon*), Cavalinha (*Equisetum arvense*), Uva Ursina (*Arctostaphylos uva-ursi*) e FOS (Fruto-oligossacáridos).

Reforço a importância da adoção de algumas medidas farmacológicas, como beber água em abundância, usar roupa íntima de algodão, usar produtos de higiene íntima e não contrariar a necessidade de ir à casa de banho.

Em caso de persistência ou agravamento dos sintomas num período máximo de 5 dias, aconselho a ida ao médico.

### **Caso Clínico III**

Uma jovem, de 25 anos, procura soluções para tratar o acne, que sente ter piorado com a utilização da máscara. O conceito “mascne” surgiu na sequência da pandemia de Covid-19, resultando da junção das palavras “máscara” e “acne”. A mascne é um tipo de “acne mecânica” que resulta do aumento da exposição da pele a um ambiente quente e húmido.

Nesta situação, o objetivo era definir uma rotina para uma pele do tipo oleosa que não fosse muito complicada, isto é, que não incluisse muitas etapas, sob pena de não ser realizada com assiduidade. Existem três passos essenciais no cuidado da pele: Limpeza, Hidratação e Proteção. Uma vez que a utente já utilizava um produto de fotoproteção diária adequado, a necessidade era reajustar os produtos utilizados na Limpeza e Hidratação. Os produtos escolhidos para a rotina de dia foram os seguintes:

1. EFFACLAR Gel Purificante com efeito Micropeeling, um gel de limpeza da La Roche-Posay® indicado para peles oleosas com tendência a acne. Apresenta como ingredientes principais da sua composição Ácido Salicílico e LHA, que garantem a ação esfoliante, e Zinco, que tem como função controlar a oleosidade e purificar a pele.
2. Sérum Mineral 89, da Vichy®, para hidratar e reforçar a função barreira da pele, tornando-a mais resistente às agressões diárias.
3. EFFACLAR MAT, um creme hidratante matificante da La Roche-Posay. Com uma textura *oil-free*, controla o excesso de sebo e reduz o tamanho dos poros.

Esta é uma rotina que deve ser realizada de manhã e os produtos devem ser colocados pela ordem indicada. À noite, o ritual é repetido, substituindo o produto usado no passo 2 pelo EFFACLAR Sérum Ultra-Concentrado da La Roche-Posay®, um sérum de rápida absorção que combina 3 ácidos queratolíticos com niacinamida e água termal. Este tem uma ação apaziguante, desobstrui os poros e corrige imperfeições.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Estágio Curricular em Farmácia Comunitária veio a confirmar-se um momento de aprendizagem fulcral para a minha formação enquanto futura farmacêutica. O contacto diário com diferentes realidades tornou esta experiência muito estimulante e enriquecedora, mantendo-me sempre motivada e com vontade de desenvolver as minhas capacidades. Além da sua importância ao nível da consolidação do conhecimento científico, o estágio mostrou-me que um bom profissional nunca pode descurar a dimensão humana. A capacidade de ouvir e compreender os utentes é tão importante quanto a capacidade de transmitir de forma clara a informação necessária à sua saúde e bem-estar.

O facto de uma parte do estágio se ter desenrolado durante uma das fases mais críticas da pandemia de Covid-19, em Portugal, acarretou alguns obstáculos. Ainda assim, sinto que, no geral, os seus propósitos foram atingidos. A disponibilidade dos elementos da equipa da Farmácia Machado para me transmitirem os seus conhecimentos e o apoio na execução das tarefas foram aspetos fundamentais para que, dentro destas condições, tudo decorresse sem prejuízo da minha instrução.

Este período pandémico veio demonstrar a importância do papel dos farmacêuticos comunitários na Saúde Pública, assumindo-se como um pilar sólido do SNS. Enquanto profissionais de saúde assumem um papel diferenciador na promoção da literacia em saúde e da utilização racional do medicamento. O reconhecimento da capacidade de atuação do farmacêutico comunitário ao nível da prevenção e tratamento tem crescido, na mesma medida que se dissocia a errónea ideia de que desempenha tarefas monótonas e que se baseiam apenas na dispensa dos medicamentos. Foi, para mim, extremamente gratificante poder servir a comunidade durante este período e confirmar na primeira pessoa a confiança que os utentes depositam no farmacêutico.

A minha experiência enquanto estagiária traduziu-se num crescimento tanto profissional quanto pessoal, tendo-me garantido as ferramentas necessárias para que hoje me sinta apta ao exercício da profissão. Dou por terminada esta etapa do meu percurso, enquanto estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com a certeza de que o processo de aprendizagem será constante ao longo da minha vida profissional e consciente da responsabilidade inerente à prestação de um serviço de saúde.

## 6. BIBLIOGRAFIA

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - A Farmácia Comunitária. [Consultado a 26 de fevereiro de 2021]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
2. VALORMED - Quem Somos. [Consultado a 26 de fevereiro de 2021]. Disponível em: <http://www.valormed.pt/paginas/2/quem-somos/>
3. INFARMED - Medicamentos Manipulados [Consultado a 10 de março de 2021]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/inspecao-medicamentos/medicamentos-manipulados>
4. KAIZEN INSTITUTE - What is Kaizen? [Consultado a 10 de março 2021]. Disponível em: [www.kaizen.com/what-is-kaizen.html](http://www.kaizen.com/what-is-kaizen.html)
5. Despacho n.º 4270-C/2020, de 7 de abril. Diário da República, 2ª Série, nº69. [Consultado a 27 de abril de 2021]. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/131246680>
6. INFARMED, I.P. - **Resumo das Características do Medicamento: Kompensan Trieffect®, comprimidos para chupar.** (2020). [Consultado a 27 de abril de 2021] Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/>

## **PARTE II**

### **MONOGRAFIA**

**“UTILIZAÇÃO DE BIOSSENSORES NA DETEÇÃO  
PRECOCE DA DOENÇA DE ALZHEIMER”**

## RESUMO

A doença de Alzheimer é uma doença neurodegenerativa que afeta sobretudo pessoas com idade superior a 65 anos. É responsável pela maioria dos casos de demência em todo o mundo e representa uma prioridade de Saúde Pública. Tendo em conta que as alterações patológicas que ocorrem no cérebro se iniciam muitos anos antes do aparecimento dos primeiros sintomas, o diagnóstico nas fases iniciais da doença é extremamente importante.

Os biomarcadores desempenham um importante papel no diagnóstico e tratamento precoces, contudo, as técnicas atualmente utilizadas para a sua deteção, apesar de eficazes, são caras, demoradas e não estão acessíveis à maioria da população. Neste sentido, é urgente o desenvolvimento de dispositivos analíticos que possam contribuir na identificação e determinação de biomarcadores da DA, a fim de facilitar o processo diagnóstico nas fases iniciais.

Os biossensores, caracterizados pela simplicidade, rápida resposta e baixo custo, surgem como uma alternativa promissora para ultrapassar as limitações inerentes aos métodos de deteção de biomarcadores da doença de Alzheimer atuais.

**Palavras-chave:** Doença de Alzheimer; biomarcadores; diagnóstico precoce; biossensores.

## **Abstract**

Alzheimer's disease is a neurodegenerative disease that mainly affects people over 65 years of age. It represents the majority of dementia cases worldwide and is a Public Health priority. Given that the pathological changes that occur in the brain begin many years before the onset of symptoms, diagnosis in the early stages of the disease is extremely important.

Biomarkers play an important role in early diagnosis and treatment, however, the techniques currently used for their detection, although effective, are expensive, time-consuming and not accessible to the majority of the population. In this sense, it's urgent to develop analytical devices that can contribute to the identification and determination of AD biomarkers, in order to facilitate the diagnostic process in the early stages.

Biosensors, characterized by simplicity, rapid response and low cost, emerge as a promising alternative to overcome the limitations inherent in current methods for detecting Alzheimer's disease biomarkers.

**Keywords:** Alzheimer's Disease; biomarkers; early diagnosis; biosensors.

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**ApoE** - Apoliproteína E

**ApoE4** - alelo E4 da apoliproteína

**APP** - Proteína precursora amilóide

**ATN** - amilóide, tau e neurodegeneração

**AuNps** - nanopartículas de ouro

**A $\beta$**  - Proteína  $\beta$ -amilóide

**DA** - Doença de Alzheimer

**DCL** - Défice cognitivo ligeiro

**DPV** - voltametria de pulso diferencial

**DSM-V** - Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais

**EIS** - Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

**ELISA** - Ensaio de imunoabsorção enzimática

**FDG** - 2-Fluoro-2-desoxi-D-glicose

**HRP** - peroxidase de rábano

**LCR** - Líquido cefalorraquidiano

**LFA** - Ensaio de fluxo lateral

**LOD** - Limite de deteção

**LSPR** - ressonância de plasma de superfície localizada

**MMSE** - Mini-Mental State Examination

**MWCNTs** - nanotubos de carbono de múltiplas paredes

**NFL** - Proteína de cadeia leve de neurofilamento

**NFT** - Emaranhados neurofibrilares intraneuronais

**NIA-AA** - National Institute on Aging-Alzheimer's Association

**NINCDS-ADRDA** - National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association

**OMS** - Organização Mundial de Saúde

**PET** - Tomografia por emissão de positrões

**PiB** - Pittsburgh compound B

**POC** - Point-of-Care

**P-tau** - Proteína tau fosforilada

**RM** - Ressonância magnética

**SPEs** - Eléttodos de impressão em tela

**SPR** - ressonância de plasma de superfície

**TAC** - Tomografia axial computadorizada

**T-tau** - Proteína tau total

## I. INTRODUÇÃO

No início do século XX, o psiquiatra e neurologista alemão Alois Alzheimer retratou pela primeira vez a Doença de Alzheimer (DA), uma doença marcada pelo declínio progressivo e irreversível das funções cognitivas.<sup>1,4</sup> Atualmente, existem mais de 50 milhões de pessoas com demência em todo o mundo e cerca de 60% a 70% dos casos de demência são representados pela DA, que se assume como a sua principal causa.<sup>2,3,4</sup>

As causas da DA permanecem incógnitas, mas existem diversos fatores de risco, modificáveis ou não modificáveis, para o desenvolvimento da doença.<sup>1,3</sup> A idade continua a ocupar um lugar de destaque enquanto fator de risco.<sup>3,5,6</sup> A prevalência da DA é pouco significativa em indivíduos com menos de 65 anos, mas a partir desta idade os casos aumentam quase de forma exponencial.<sup>1,3</sup> Os casos de DA de início precoce, isto é, que surgem antes dos 60 anos, habitualmente relacionam-se com fatores genéticos.<sup>1,3</sup> A presença do alelo E4 da apolipoproteína (ApoE4) é o fator de risco genético mais comumente identificado.<sup>1</sup> Atendendo ao envelhecimento progressivo da população e à relação epidemiológica da demência com a idade, entende-se o aumento desmedido do número de casos de DA ao longo dos últimos anos.<sup>1,4</sup> Esta forma de demência degenerativa tornou-se uma das principais causas de dependência e morbidade nos idosos.<sup>1,2</sup>

Apesar do evidente progresso feito na compreensão desta patologia, decorrido um século desde a sua primeira descrição, a DA continua a representar um verdadeiro desafio.<sup>1,4</sup> A sua fisiopatologia não é totalmente conhecida e não existem teorias acerca da sua patogénese capazes de explicar a totalidade das suas características.<sup>1</sup> O diagnóstico definitivo só é possível após morte, através da observação do tecido cerebral, e ainda não existe nenhuma terapêutica que consiga tratar a doença com sucesso, os tratamentos farmacológicos existentes destinam-se apenas ao alívio dos sintomas.<sup>1</sup> A demência ocupa um papel cada vez mais proeminente entre as preocupações das autoridades de saúde, devido ao seu forte impacto social e económico à escala mundial.<sup>1</sup> Com efeito, em 2012, a OMS declarou a demência como uma prioridade de Saúde Pública.<sup>2</sup>

Vários estudos clínicos e neuropatológicos classificaram os critérios utilizados para o diagnóstico de DA como insuficientes, por se basearem essencialmente na avaliação clínica dos sintomas.<sup>34</sup> Uma vez que as alterações patológicas no cérebro dos doentes começam décadas antes do aparecimento dos primeiros sintomas, o diagnóstico baseado nas características clínicas pode manifestar-se tardio. Além disso, o desenvolvimento de novas

terapêuticas farmacológicas também é influenciado, todos os anos a indústria farmacêutica investe milhões no desenvolvimento de novos fármacos, os quais muitas vezes não passam dos ensaios clínicos.<sup>4,34</sup> Compreende-se, portanto, que o rastreio e diagnóstico mais precoces do declínio cognitivo são fundamentais.<sup>1</sup>

## **2. DOENÇA DE ALZHEIMER**

### **2.1 FASES DA DOENÇA E CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS**

A DA evolui de forma lenta e progressiva, o que torna difícil a determinação, clara e objetiva, do momento de início e a delimitação das diferentes etapas da doença.<sup>3</sup> Ainda assim, é possível reconhecer três fases de evolução: fase inicial ou ligeira, fase intermédia ou moderada, e fase tardia ou severa.<sup>3,6</sup> A DA não afeta todos os indivíduos da mesma maneira, pelo que a evolução da doença não é igual em todos os casos e pode haver oscilação dos sintomas manifestados.<sup>6</sup> A idade a que o diagnóstico é realizado e a existência de comorbidades são dois fatores que podem influenciar o curso da doença.<sup>6</sup> As alterações patológicas no cérebro começam antes de qualquer sintoma aparecer, este período, conhecido como Alzheimer pré-clínico, pode compreender vários anos.<sup>6</sup>

A fase inicial da doença é marcada pela dificuldade de retenção de novas informações.<sup>1,3</sup> Contrariamente às recordações de acontecimentos passados ou com grande impacto emocional que se encontram preservadas, a memória declarativa está comprometida.<sup>1</sup> As principais dificuldades nesta fase são: encontrar as palavras adequadas, localizar objetos, e a orientação no espaço e no tempo.<sup>1,3,6</sup> Problemas com a organização e planificação também podem surgir.<sup>3,6</sup> Os sintomas podem não parecer óbvios, mas a família e amigos próximos conseguem perceber os sintomas e um médico seria capaz de os identificar usando as ferramentas de diagnóstico indicadas.<sup>6</sup> A intensidade com que estas dificuldades se fazem notar pode variar, sobretudo com a ansiedade, uma vez que o doente nesta fase tem consciência das suas limitações.<sup>1,3</sup> Apesar de as alterações sentidas terem algum impacto na vida social e profissional do doente, este consegue realizar as tarefas diárias de forma autónoma.<sup>6</sup>

O estágio moderado da DA é normalmente o mais longo e pode durar muitos anos.<sup>6</sup> Os sintomas de demência são mais pronunciados e, conseqüentemente, o impacto no quotidiano é maior.<sup>1,3,6</sup> O doente pode apresentar alterações na personalidade e no comportamento, mostrando sentimentos como frustração e irritabilidade, e pode ter dificuldade em reconhecer familiares e amigos.<sup>5</sup> Alucinações e delírio também podem

manifestar-se nesta fase.<sup>1,3,5</sup> A extensão dos danos cerebrais interfere com a capacidade de comunicação, que se encontra em declínio, e com a capacidade de realização de atos motores, pelo que o doente deixa de conseguir levar a cabo as tarefas diárias sozinho, incluindo as respeitantes à higiene e cuidado pessoal.<sup>1,3,5</sup> O final do dia é habitualmente marcado por estados de agitação e o ciclo sono-vigília começa a desregular-se.<sup>1,3</sup> À medida que a doença progride, a pessoa com DA perderá a sua independência, é importante descobrir o que a pessoa ainda consegue fazer ou encontrar maneiras de simplificar as tarefas.<sup>6</sup>

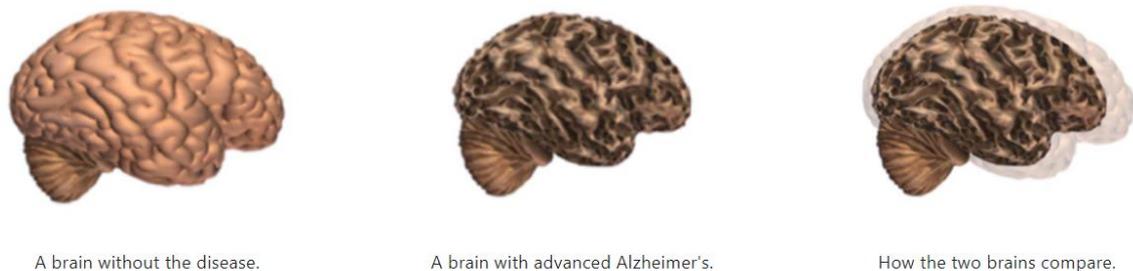
Na fase final da doença as capacidades cognitivas do doente desaparecem quase na totalidade, apenas as funções sensoriais e motoras básicas se mantêm.<sup>1,3</sup> A comunicação é inexistente ou baseia-se em palavras soltas, e o doente deixa de reconhecer a família.<sup>1,3,6</sup> Esta fase caracteriza-se pela perda da mobilidade, dificuldade na alimentação e incontinência.<sup>1,3</sup> O estado de vulnerabilidade em que o doente se encontra leva ao desenvolvimento de diversas complicações, sendo que estas quando são cardiopulmonares e infecciosas podem conduzir à morte.<sup>1,3</sup>

Esta classificação apenas descreve de forma generalizada as alterações das capacidades do doente aquando do surgimento dos primeiros sintomas.<sup>6</sup> Tendo em conta que as fases se podem sobrepor pode ser difícil colocar uma pessoa com DA numa fase específica.<sup>6</sup> Uma pessoa com Alzheimer pode viver até 15-20 anos, após o diagnóstico.<sup>1,6</sup>

## 2.2 FISIOPATOLOGIA

As alterações patológicas observadas no cérebro de um indivíduo com DA incluem as placas senis (ou placas neuríticas ou placas amilóides), os emaranhados neurofibrilares (NFT), a redução da densidade sináptica, e a deterioração e perda neuronal.<sup>3,4,11,12</sup>

Apesar de outras hipóteses moleculares, genéticas e epidemiológicas importantes terem sido explicadas, a presença de placas de  $\beta$ -amilóide ( $A\beta$ ) e emaranhados neurofibrilares continuam a representar as duas principais características patológicas da DA.<sup>1,10,13</sup> Estes dois processos patológicos são a causa da neurodegeneração com perda sináptica e neuronal, alterações que macroscopicamente são perceptíveis pela atrofia cortical e dos hipocampos.<sup>4,7,8</sup>



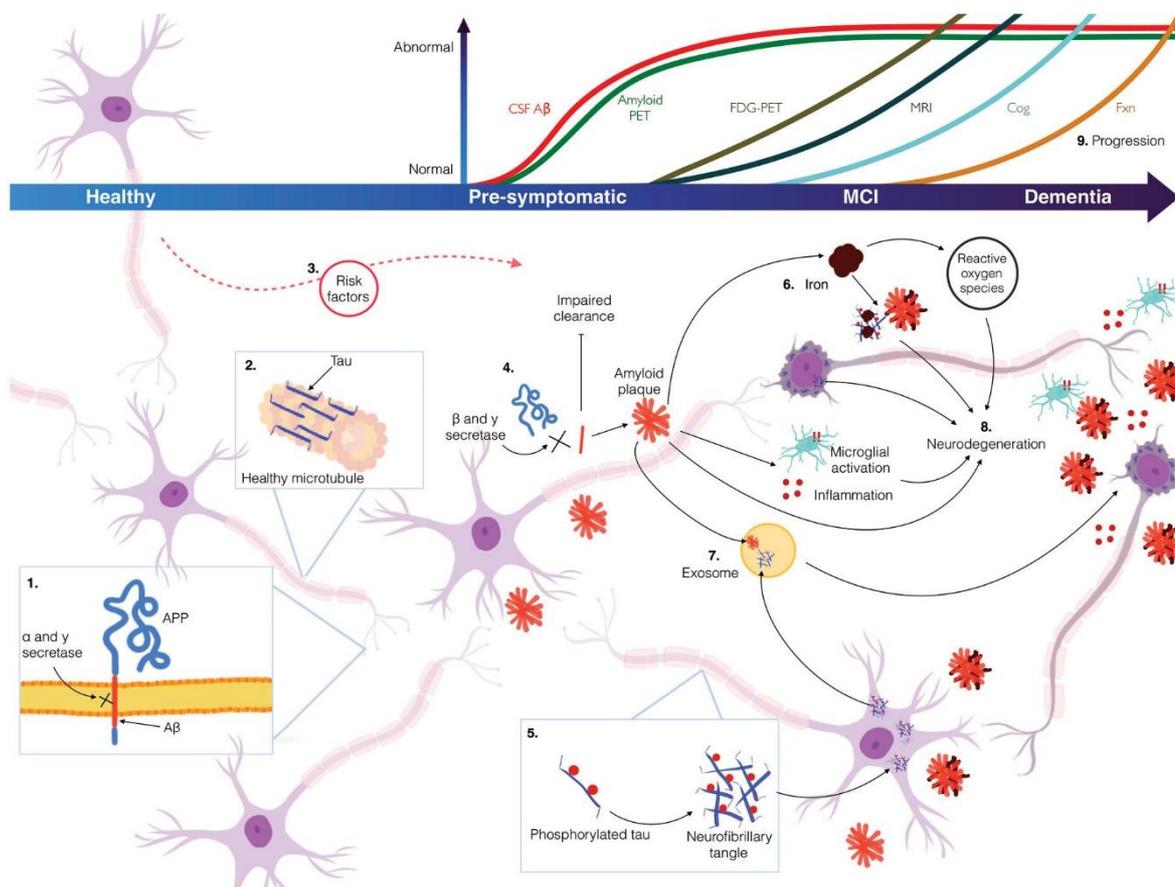
**Figura 1** - Atrofia macroscópica de um cérebro com Doença de Alzheimer.  
(Adaptada a partir da referência)<sup>7</sup>

As placas senis são formadas por agregados extracelulares de proteína  $A\beta$ , que resultam da clivagem anormal da proteína precursora amilóide (APP) pelas enzimas  $\lambda$ -secretase e  $\beta$ -secretase.<sup>8,9,10</sup> A APP encontra-se na membrana das células nervosas e normalmente é processada pela via não amiloidogénica, sofrendo clivagem por  $\alpha$ -secretase e  $\gamma$ -secretase.<sup>9,10</sup> Quando a APP é clivada por  $\lambda$ -secretase e  $\beta$ -secretase origina fragmentos de  $A\beta$ , principalmente  $A\beta_{40}$  e  $A\beta_{42}$ , que após oligomerização acabam por se depositar sob forma de fibrilhas e placas neuríticas.<sup>8,9,10</sup> A acumulação de formas patológicas de  $A\beta$  no espaço extracelular é considerada o processo patológico primário da DA e é conduzida pelo desequilíbrio que se verifica entre a produção e a eliminação dos peptídeos  $A\beta$ .<sup>8,9,12</sup>

Os NFT são constituídos principalmente por filamentos helicoidais emparelhados que resultam da hiperfosforilação da proteína tau, uma proteína que estabiliza os microtúbulos.<sup>8,9,10</sup> Na DA, a tau é fosforilada em vários locais, levando à sua remoção dos microtúbulos e, conseqüentemente, ao colapso da sua estrutura.<sup>10</sup> Além disso, há interrupção de uma série de processos celulares, pois a tau tem uma importante intervenção na manutenção da integridade do citoesqueleto e no transporte axonal.<sup>10,12</sup> A tau hiperfosforilada agrega-se em fragmentos helicoidais emparelhados que originam os NFT.<sup>8,10</sup>

A perda sináptica e neuronal normalmente é coincidente com a formação de NFT e, como tal, as características clínicas e a gravidade da DA correlacionam-se melhor com a patologia de NFT, enquanto a patologia  $A\beta$  atinge um platô quando surgem os primeiros sintomas.<sup>8</sup> A acumulação destas proteínas provoca ativação microglial, inflamação, dano mitocondrial, stress oxidativo, défices de neurotransmissores – particularmente acetilcolina –, perda da função neuronal e, em última instância, apoptose.<sup>9,10</sup> Embora tenha existido um notável avanço na compreensão da patogénese da DA, a dificuldade de explicação da sua

fisiopatologia prende-se na falta de conhecimento dos principais mecanismos que desencadeiam as patologias observadas.



**Figura 2** - Representação dos dois principais mecanismos patológicos da DA – formação de placas senis e entrelaçados neurofibrilares. (Adaptada a partir da referência)<sup>9</sup>

### 2.3 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da DA baseia-se essencialmente na avaliação das características clínicas, através da recolha do historial clínico e familiar do paciente e da realização de uma série de provas, onde se incluem: testes cognitivos – como o Exame Breve do Estado Mental (Mini-Mental State Examination – MMSE) –, exames neuropsicológicos, exames laboratoriais ao sangue e urina, para identificar outras possíveis causas dos sintomas cognitivos, e varreduras cerebrais usando técnicas de imagiologia como tomografia axial computadorizada (TAC), ressonância magnética (RM) ou tomografia por emissão de positrões (PET).<sup>14,17,18,19</sup>

Esta abordagem clínica é operacionalizada segundo critérios internacionais de diagnóstico, sendo alguns dos mais utilizados os do *National Institute on Aging-Alzheimer's*

Association (NIA-AA) e o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-V).<sup>1,3,9,14,15</sup>

De acordo com os critérios *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* (NINCDS-ADRDA), de 1984, a DA provável, correspondente ao diagnóstico clínico de DA durante a vida, é confirmada por testes neuropsicológicos, perda progressiva de memória, dificuldade de realização de tarefas cotidianas e presença de outros sintomas como afasia, apraxia e agnosia.<sup>14,23</sup> Todos esses sintomas surgem entre os 40 e os 90 anos de idade e nenhuma outra causa de demência é encontrada.<sup>14,23</sup> Na DA possível há ausência de distúrbios neurológicos e o estado de demência justifica-se pela presença de outra doença. O diagnóstico definitivo só pode ser realizado após a morte, através da análise do tecido cerebral na autópsia.<sup>19,23</sup>

Em 2011, o NIA-AA procedeu a uma atualização os critérios NINCDS-ADRDA de 1984 para maior especificidade e sensibilidade no diagnóstico da doença de Alzheimer.<sup>21,23</sup> De acordo estes critérios diagnósticos, o início clínico da DA pode ser dividido em três amplos períodos: pré-clínico, déficit cognitivo ligeiro (DCL) e demência.<sup>16</sup>

O diagnóstico clínico enfrenta alguns desafios e limitações, já que diversos estudos demonstraram a presença de alterações neuropatológicas indicativas de DA após a morte, em indivíduos que ao longo da sua vida não apresentavam sintomas significativos de demência.<sup>15,16</sup> A nova “estrutura de pesquisa” do NIA-AA, de 2018, dissocia os processos patológicos das características clínicas e a DA é definida, para fins de pesquisa, unicamente em termos de uma construção biopatológica.<sup>15,22</sup> O foco principal é o diagnóstico em pessoas vivas com recurso aos biomarcadores, que são agrupados em deposição de A $\beta$ , tau patológica e neurodegeneração (ATN).<sup>22</sup> A definição dos estádios da doença é feita com base na classificação ATN.<sup>15,22</sup>

### **3. BIOMARCADORES**

Biomarcadores, ou marcadores biológicos, são indicadores mensuráveis de alterações patológicas específicas de uma doença.<sup>23,24</sup> Desempenham um papel importante no diagnóstico e avaliação do risco de desenvolvimento da doença, bem como na descoberta de novos tratamentos e na monitorização dos seus efeitos.<sup>26</sup>

A identificação e validação de biomarcadores específicos para a DA são, atualmente, uma área muito explorada, devido à sua relevância no que ao diagnóstico e tratamento precoces diz respeito.<sup>25</sup> Os biomarcadores devem ser específicos, adequados para uso rotineiro na prática clínica e apontar fases específicas da doença.<sup>25</sup>

Os principais biomarcadores da DA são os biomarcadores de depósitos  $\beta$ -amiloide, da proteína tau e os de neurodegeneração.<sup>23,25,26</sup> Estes resultam numa série de alterações no cérebro e no líquido cefalorraquidiano (LCR), que podem prolongar-se até ao sangue. De acordo com o método de análise, os biomarcadores da DA podem classificar-se em biomarcadores bioquímicos ou imagiológicos.<sup>23</sup>

### 3.1 Biomarcadores no LCR

Os biomarcadores do LCR têm grande utilidade, dado que o LCR está em contato direto com o espaço extracelular do cérebro e reflete os processos metabólicos que aí ocorrem.<sup>24,25</sup> Os três principais biomarcadores da DA no LCR são os níveis de proteína A $\beta$ 42, tau total (t-tau) e tau fosforilada (p-tau).<sup>23,26,28</sup> Estes são, atualmente, utilizados na prática clínica para suportar o diagnóstico da doença.<sup>23</sup>

Em indivíduos portadores de DA verifica-se uma diminuição dos níveis de A $\beta$ 42 no LCR.<sup>23,27</sup> Este decréscimo é causado pela deficiente eliminação desta proteína do cérebro para o LCR, assim como pela sua agregação e deposição em placas senis.<sup>23,27,28</sup> Por outro lado, os níveis de P-tau e T-tau no LCR sofrem um aumento, que está relacionado com a formação de NFT.<sup>23,26</sup> Apesar do aumento de T-tau no LCR não ser específico da DA, está relacionado com a perda neuronal durante a progressão da AD, à medida que aumenta a sua concentração no LCR os danos cognitivos são mais significativos.<sup>23,26</sup> A concentração de P-tau reflete a patogénese da tau e é considerada um marcador mais específico, pois, contrariamente, ao que acontece na DA, não se encontra aumentada em outras demências.<sup>26</sup>

O método mais utilizado para medir as concentrações de A $\beta$  e tau no LCR é o ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA).<sup>27,28</sup> Níveis baixos de A $\beta$ 42 e níveis aumentados de T-tau e P-tau, podem ser detetados no LCR tanto em pessoas cognitivamente saudáveis, ou seja, na fase pré-clínica, como em pessoas com DCL, sendo por isso considerados bons preditores da evolução da doença.<sup>23</sup>

### 3.2 Biomarcadores imagiológicos

O desenvolvimento de marcadores PET para a deteção *in vivo* de depósitos A $\beta$  extracelulares e emaranhados de tau constituiu um progresso significativo no estabelecimento de biomarcadores da DA, complementando os dados obtidos através do LCR.<sup>28</sup> A presença de placas senis no espaço extracelular pode ser detetada através de tomografia com emissão de positrões, sendo o *Pittsburgh compound B* (PiB) o marcador imagiológico amilóide mais utilizado.<sup>23,26,28</sup> O PiB é um ligando específico da A $\beta$  que, permite analisar *in vivo* a concentração de A $\beta$  no cérebro e a sua distribuição espacial.<sup>23</sup> Os resultados obtidos pela PiB-PET demonstraram uma boa correlação com os depósitos A $\beta$  detetados no tecido cerebral *post-mortem*.<sup>23</sup> A utilização clínica do PET-PiB tem alguns entraves, que incluem o curto tempo de meia-vida do ligando PiB e o facto de ser um método imagiológico dispendioso.<sup>27,28</sup> Neste sentido, foram desenvolvidos e autorizados para uso clínico outros marcadores para depósitos A $\beta$ , como o <sup>18</sup>F-florbetapir, <sup>18</sup>F-flutemetamol e <sup>18</sup>F-florbetabeno.<sup>25,27,28</sup> Recentemente, o desenvolvimento de ligantes específicos da tau tornou possível avaliar a distribuição regional e a carga total de tau *in vivo* com PET.<sup>23</sup>

A PET com auxílio do marcador imagiológico FDG (2-Fluoro-2-desoxi-D-glicose) permite avaliar o metabolismo da glicose no cérebro e é considerado um biomarcador de lesão neuronal.<sup>23,24,26,27</sup> Em pacientes com DA, observa-se uma redução do metabolismo de glicose temporoparietal na FDG-PET.<sup>26,28</sup> Este défice metabólico está inversamente relacionado com perda da função neuronal, quanto menor a captação de FDG maior é o défice cognitivo.<sup>23</sup>

A avaliação da atrofia cerebral, especialmente no lobo temporo-medial, através RM é considerada um biomarcador de neurodegeneração.<sup>23</sup> A atrofia temporal-medial, observada em imagens de MRI, reflete a perda de volume do hipocampo e a diminuição na espessura do córtex cerebral, e pode estender-se para os lobos parietal, occipital e frontal ao longo dos anos.<sup>24,26,27</sup> O aumento da atrofia hipocampal e cortical são úteis na previsão da progressão de DCL para DA.<sup>28</sup>

### 3.3 Biomarcadores no sangue

Muitos investigadores têm voltado a sua atenção para a identificação de biomarcadores no sangue, uma vez que se trata de uma amostra que pode ser obtida de forma simples e não

invasiva.<sup>24,28</sup> A validação de um biomarcador sanguíneo de AD forneceria um método rápido, não invasivo e de baixo custo para a detecção e diagnóstico precoce da doença.<sup>26,29</sup> Os biomarcadores de sangue potenciais incluem os níveis plasmáticos de A $\beta$ , proteína tau e proteína de cadeia leve de neurofilamento (NFL).<sup>26</sup>

Como já referido anteriormente, os peptídeos A $\beta$ , em particular A $\beta$ 42, estão implicados na patogênese da DA, sem embargo, o biomarcador de A $\beta$  mais promissor no sangue parece ser a razão de A $\beta$ 42/A $\beta$ 40.<sup>29</sup> Existem uma diversidade de estudos independentes que sugerem que a proporção A $\beta$ 42/A $\beta$ 40 plasmática, se determinada usando métodos que medem A $\beta$  com interferências mínimas da matriz, reflete a patologia de A $\beta$  no cérebro.<sup>30</sup>

As concentrações plasmáticas de tau podem ser quantificadas com êxito recorrendo a novas técnicas de imunoensaio altamente sensíveis.<sup>29</sup> Em indivíduos com Alzheimer, as concentrações plasmáticas de tau estão ligeiramente aumentadas em comparação com indivíduos cognitivamente normais, mas não de forma tão clara quanto no LCR.<sup>29,30</sup> Os níveis de Tau no sangue podem ser úteis como preditor de declínio cognitivo futuro, não constituem um marcador específico.<sup>29</sup>

A NFL é libertada no fluido intersticial cerebral quando ocorre lesão neuronal.<sup>29</sup> Os níveis de NFL no sangue são elevados na DA e também em outras doenças neurodegenerativas.<sup>24</sup> Neste sentido, não é um biomarcador específico, mas pode ser útil como um biomarcador de neurodegeneração.<sup>29,30</sup> Estudos recentes mostraram uma correlação positiva entre os níveis de NFL no plasma e os níveis no LCR.<sup>26,29,30</sup>

#### **4. BIOSSENSORES**

Os biossensores são dispositivos analíticos que traduzem reações biológicas em sinais mensuráveis.<sup>31,32</sup> Desde a criação do primeiro biossensor, em 1962, até ao momento atual foram feitos grandes progressos no desenvolvimento destes dispositivos, com melhorias significativas na construção, na qualidade dos materiais e na estabilidade dos elementos bioreceptores.<sup>31,32,34,35</sup> Na área da saúde, os biossensores demonstraram um grande potencial graças às suas análises rápidas, simples e pouco dispendiosas.<sup>32,33</sup> São frequentemente aplicados na monitorização de doenças, descoberta de tratamentos e detecção de biomarcadores específicos em fluidos biológicos.<sup>32,36</sup>

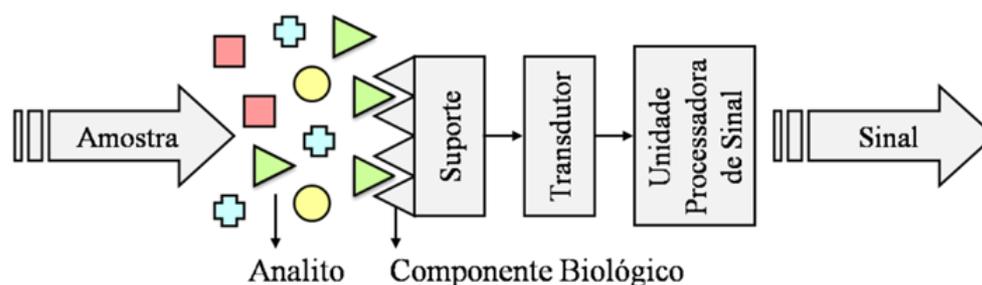
Um biossensor é constituído por dois elementos essenciais, que se encontram intimamente relacionados: um bioreceptor e um transdutor.<sup>32,33</sup> A sua classificação pode ser feita com base no bioreceptor, no tipo de transdutor ou ambos.<sup>34</sup>

O bioreceptor é o material biológico responsável pela deteção do analito alvo e encontra-se imobilizado no suporte do biossensor.<sup>32-34</sup> As características mais importantes de um bioreceptor são a especificidade e estabilidade, permitindo a quantificação do analito de interesse em amostras complexas sem a necessidade de se efetuarem etapas adicionais de purificação.<sup>32,33,40</sup> A imobilização do componente biológico na superfície do sensor é uma etapa de grande importância para garantir a estabilidade operacional a longo prazo, dado que nela os sítios ativos da molécula devem ser preservados de modo a não lesar a reação com o analito alvo.<sup>34,41</sup> As técnicas de imobilização mais utilizadas são adsorção física, encapsulação, oclusão, ligação covalente e ligação covalente cruzada.<sup>41</sup>

Com base no elemento de biorreconhecimento, os biossensores podem ser classificados como imunossensores, com base em ácido nucleico, com base em proteína, biossensores de células inteiras e biossensores enzimáticos.<sup>32-35</sup>

O analito quando entra em contato com bioreceptor provoca uma alteração físico-química.<sup>41</sup> O transdutor é responsável por converter a interação entre o analito e o bioreceptor num sinal mensurável.<sup>32,33</sup> De acordo com o sinal gerado os biossensores classificam-se em eletroquímicos, óticos, térmicos e piezoelétricos.<sup>32-35</sup> A sensibilidade e o limite de deteção (LOD) do dispositivo é influenciada pelo transdutor, este deve ser cuidadosamente considerado ao desenvolver um biossensor.<sup>32</sup> A compatibilidade do transdutor com o bioreceptor é um requisito importante para o biossensor ter êxito.<sup>33</sup>

Por fim, a unidade processadora de sinal irá amplificar o sinal e transferi-lo para um monitor ou dispositivo, onde é possível visualizar se o analito foi ou não identificado e a qual sua concentração na amostra.<sup>41</sup>



**Figura 3** - Representação esquemática de um biossensor (Adaptada a partir da referência)<sup>41</sup>

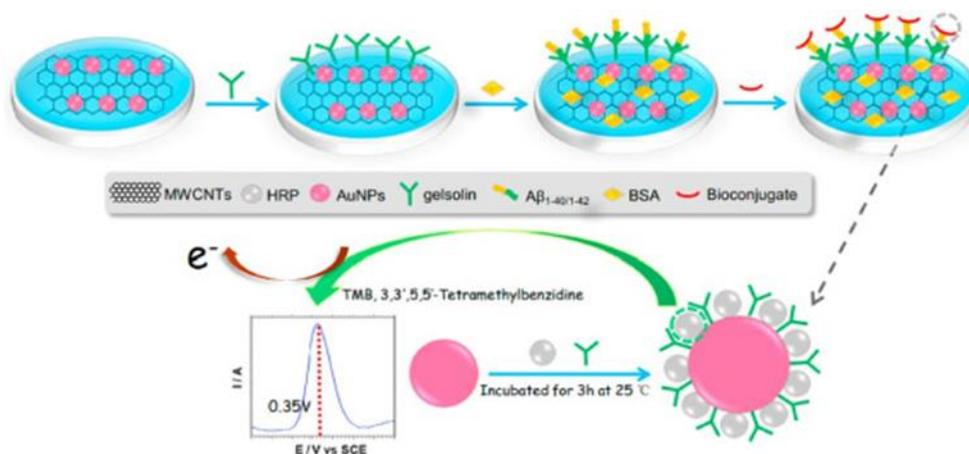
## 4.1 Aplicação de biossensores na doença de Alzheimer

Na última década, a DA tem sido a doença neurodegenerativa mais intensamente investigada no que diz respeito à detecção de biomarcadores, no sangue e no LCR, principalmente de proteína A $\beta$ , proteína tau e ApoE.<sup>34</sup> Muitos esforços têm sido realizados para desenvolver biossensores capazes de detetar estes biomarcadores de forma sensível e específica. Nas secções abaixo, são indicados alguns exemplos de biossensores desenvolvidos para a detecção dos principais biomarcadores da DA.

### 4.1.1 Biossensores para detecção de A $\beta$

A beta-amilóide é considerada a principal característica patológica associada à DA, pelo que muitos investigadores focaram a sua atenção no desenvolvimento de biossensores para a detecção rápida e específica desta proteína.<sup>34,35</sup>

Os transdutores eletroquímicos têm sido amplamente aplicados na detecção da DA graças à sua elevada sensibilidade, especificidade, facilidade de uso e resposta rápida para o analito alvo.<sup>33</sup> Os imunossensores eletroquímicos combinam as características anteriormente descritas com a alta afinidade alcançada por meio de interações anticorpo-antígeno e são muito explorados para a detecção do peptídeo A $\beta$ .<sup>34,35</sup> Yu *et al.* desenvolveram um biossensor eletroquímico muito sensível usando o método sanduíche para determinação dos níveis de A $\beta$  solúvel.<sup>32,33,35</sup> Neste caso, a gelsolina, uma proteína com afinidade específica para A $\beta$ , foi imobilizada numa base de nanotubos de carbono de múltiplas paredes (MWCNTs) e o sinal foi amplificado recorrendo a nanopartículas de ouro (AuNps) funcionalizadas com peroxidase de rábano (HRP) e gelsolina.<sup>32,35</sup> O sinal gerado foi quantificado através de voltametria de pulso diferencial (DPV), umas das técnicas eletroanalíticas mais utilizadas para a detecção de biomarcadores da DA.<sup>32,33</sup> A plataforma criada demonstrou ter sensibilidade e seletividade aceitáveis e capaz de avaliar variações dos níveis de AB solúvel no LCR e tecidos cerebrais em modelo animal.<sup>35</sup> Esta técnica também demonstrou ser uma ferramenta útil no estudo de doenças neurodegenerativas.<sup>35</sup>



**Figura 4** - Construção do biossensor eletroquímico desenvolvido por Yu *et al.* para a detecção de Aβ40 e Aβ42 (Adaptada a partir da referência)<sup>32</sup>

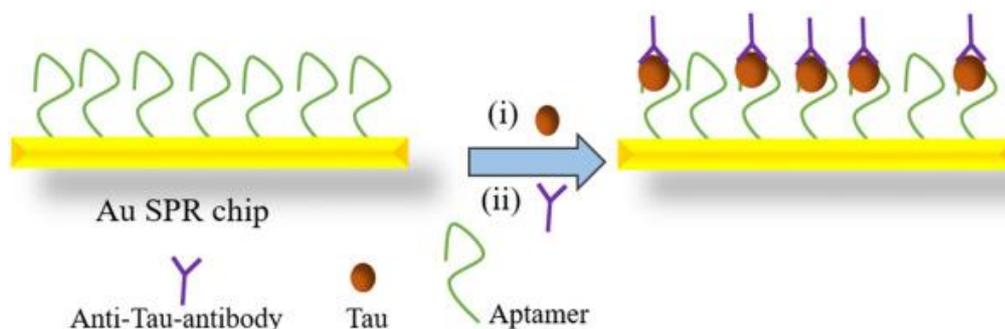
Biossensores óticos, particularmente de ressonância de plasma de superfície localizada (LSPR) e ressonância de plasma de superfície (SPR), também têm sido aplicados para detectar e medir os níveis de Aβ42 em fluidos biológicos.<sup>34</sup> Os transdutores de SPR e LSPR podem ser desenvolvidos para detecção em tempo real da interação bimolecular porque são rápidos, sensíveis e *label-free*.<sup>32,33</sup> Por exemplo, Palladino *et al.* usaram o SPR para estudar a formação de placas senis em tempo real através da imobilização de anticorpos específicos em *chips* de biossensores.<sup>32</sup> Este método tem a vantagem da análise poder ser realizada sem recorrer a fluoróforos, que pode levar a alterações no processo de agregação, e constitui uma nova ferramenta para investigação de inibidores de agregação, podendo auxiliar no desenvolvimento de tratamentos para a doença.<sup>32</sup> Usando LSPR, Kang *et al.* realizaram a quantificação de Aβ42 em condições fisiológicas.<sup>33,34</sup> Trata-se de um biossensor *label-free* baseado em AuNPs, que agem como ativador catalítico e repórter ótico, e agregação Aβ mediada por ApoE4.<sup>33,34</sup> Este trabalho demonstrou que ApoE4 induz a agregação de Aβ42 de forma mais específica e rápida do que a de Aβ40.<sup>34</sup>

#### 4.1.2 Biossensores para detecção de tau

A t-tau e a p-tau são, como já referido anteriormente, importantes biomarcadores do LCR para o diagnóstico precoce da DA, portanto, com o conhecimento adequado da sua estrutura, podem ser desenvolvidos biossensores altamente sensíveis e específicos.<sup>36</sup> Os biossensores eletroquímicos também têm sido os mais aplicados para a determinação da proteína tau.<sup>34</sup> Por exemplo, Esteves-Villanueva *et al.* desenvolveram um biossensor

eletroquímico para avaliar a oligomerização da tau.<sup>32-34</sup> A espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) foi aplicada para detetar e quantificar a ligação entre a proteína tau em solução, que atua como bioreceptor, e a tau imobilizada na superfície de Au.<sup>32,33</sup> A ligação tau-tau induziu mudança conformacional e eletrostática e permitiu uma análise rápida da amostra. Este biossensor pode ser utilizado para rastrear o início da neurodegeneração e potenciais inibidores de agregação.<sup>32-34</sup>

Um biossensor SPR usando o ensaio de sanduíche de aptâmero/anticorpo de DNA foi desenvolvido por Kim *et al.* para a detecção de tau-381 em amostras de plasma humano não diluído.<sup>33,34,36</sup> O aptâmero de DNA foi imobilizado no chip de ouro SPR, modificado primeiro com uma monocamada mista de ácido 11-mercaptoundecanóico e 11-mercaptoundecanol.<sup>34</sup> Para realizar o método de sanduíche, um anticorpo tau é adicionado após a fixação de tau aos aptâmeros para amplificação do sinal.<sup>36</sup> Após a adsorção específica da proteína tau, os anticorpos fluíram através da superfície modificada da plataforma de ouro levando à formação de um imunocomplexo em sanduíche que aumentou o sinal de detecção de SPR.<sup>34</sup>



**Figura 5** - Biossensor SPR desenvolvido por Kim *et al.* para detecção de tau-381 (Adaptada a partir da referência)<sup>36</sup>

#### 4.1.3 Biossensores para detecção de ApoE

A ApoE é o principal fator de risco genético para o desenvolvimento de DA de início precoce, a maioria dos biossensores desenvolvidos eram eletroquímicos.<sup>32,34</sup> Cheng *et al.* descreveram um biossensor para detecção de mutação do gene ApoE usando superfícies de vidro revestidas com óxido de estanho e índio modificadas com AuNps.<sup>32</sup> O dispositivo foi aplicado para medições EIS e LSPR, tendo demonstrado melhor desempenho através das técnicas eletroquímicas, que confirmam mais uma vez a sua alta sensibilidade.<sup>32,34</sup> Em 2018, Yi *et al.* desenvolveram um biossensor para quantificação e genotipagem da ApoE através de SPR.<sup>32</sup> Neste caso, os filmes de Au foram modificados com sondas de DNA biotiniladas

complementares à sequência do alelo  $\epsilon 4$  da ApoE.<sup>32</sup> Após a hibridização, uma reação de clivagem enzimática foi realizada e adicionou-se estreptavidina.<sup>32</sup> Para sequências incompatíveis de base única, a estreptavidina ligou-se às sondas de DNA biotinizadas, enquanto para a sequência complementar, a ligação biotina-estreptavidina não se verificou, resultando em diferentes sinais de SPR.<sup>32</sup>

## 5. BIOSSENSORES *versus* MÉTODOS CONVENCIONAIS

Nos últimos anos, várias técnicas foram desenvolvidas para identificação de biomarcadores de AD.<sup>32</sup> Até ao momento, as técnicas mais utilizadas incluem espectrometria de massa, imagem por ressonância magnética, ensaio de imunoabsorção enzimática, e tomografia por emissão de positrão.<sup>32,33,35</sup> Apesar de serem técnicas eficazes, apresentam várias desvantagens que tornam a sua utilização desadequada na rotina clínica: são caras, pouco sensíveis, demoradas e inacessíveis a uma parte da população.<sup>32,33,35</sup> Outra limitação é a necessidade de pessoal habilitado e profissional para a execução e interpretação dos resultados.<sup>35</sup> O diagnóstico nas fases iniciais da doença usando as técnicas referidas torna-se muito difícil e quase inconcebível.<sup>35</sup>

Em contrapartida, os biossensores são ferramentas simples, rápidas e de baixo custo que possuem um elevado potencial no diagnóstico de doenças.<sup>32-35</sup> Outras das vantagens destes dispositivos são a possibilidade de quantificar múltiplos biomarcadores altamente sensíveis, o potencial de portabilidade e a acessibilidade, que tendo vindo a aumentar graças à possível utilização de fluidos biológicos de fácil amostragem.<sup>32</sup> Com efeito, o desenvolvimento de biossensores tem evoluído no sentido da tecnologia *Point-of-Care* (POC), que permite determinar de forma precisa e sensível os principais biomarcadores de AD em fluidos biológicos.<sup>32,34</sup>

Os biossensores POC são ferramentas simples e independentes, capazes de realizar análises com recursos extremamente limitados.<sup>32</sup> Estes dispositivos permitem a monitorização e diagnóstico de doenças no momento e no local de atendimento do utente.<sup>38,39</sup> Graças ao curto intervalo de tempo entre a colheita da amostra e a obtenção de resultados bem como à proximidade com o utente, permitem evitar atrasos no tratamento e constituem uma opção diagnóstica mais acessível, já que uma parte da população não tem acesso aos procedimentos centralizados.<sup>37,38</sup>

Os dois tipos principais de biossensores POC são elétrodos de impressão em tela (*screen-printed electrodes*, SPEs) e ensaio microfluídico baseado em papel.<sup>39</sup> Os SPEs têm sido amplamente empregues na produção em larga escala de biossensores POC eletroquímicos graças à sua simplicidade de operação, confiabilidade, potencial portabilidade e baixo custo.<sup>34,39</sup> Esta tecnologia apresenta recursos para fabricar dispositivos POC descartáveis em grandes escalas para análise em tempo real ou monitorização de um biomarcador clínico.<sup>39</sup>

As plataformas microfluídicas baseadas em papel, como o ensaio de fluxo lateral (LFA), são utilizadas para a determinação de biomarcadores no local de atendimento ou em contexto doméstico.<sup>39</sup> Estes ensaios requerem uma pequena quantidade de amostra – plasma ou LCR, por exemplo – e são muito simples de executar, podendo mesmo ser realizados por pessoas não especializadas e sem recurso a instalações de laboratório sofisticadas.<sup>37,39</sup> A análise é feita de forma rápida, sendo apenas necessários entre 5 a 20 minutos para produzir um resultado qualitativo na presença ou ausência do analito.<sup>39</sup>

## 6. PERSPETIVAS FUTURAS

Com base nos estudos desenvolvidos ao longo dos últimos anos a respeito da deteção de biomarcadores da DA em fluídos humanos, é possível identificar alguns aspetos importantes a ter em conta no desenvolvimento de futuros biossensores.<sup>34,35</sup>

A maioria das pesquisas realizadas está focada na deteção de biomarcadores de AD no LCR, os estudos sobre a deteção de biomarcadores no sangue e na urina humanos são escassos.<sup>33</sup> É desejável que surjam mais estudos acerca da deteção de biomarcadores de AD no sangue, pois permite contornar a dor da punção lombar para obtenção de amostras de LCR.<sup>33</sup>

Dada a existência de diferentes isoformas da proteína tau e da proteína A $\beta$ , outra característica a ter em conta no desenvolvimento de futuros biossensores é a especificidade dos elementos de reconhecimento biológico.<sup>34</sup> O desenvolvimento de elementos de biorreconhecimento capazes de distinguir diferentes variantes de uma proteína permitirá aumentar a qualidade e a precisão dos procedimentos diagnósticos.<sup>34</sup>

Muitos dos biossensores desenvolvidos destinam-se à determinação de apenas um único biomarcador, os estudos sobre a deteção multiplexada de vários biomarcadores são limitados.<sup>33,34</sup> Como a DA é considerada uma doença multifatorial resultante de uma

combinação de diferentes processos patológicos, seria importante adaptar a tecnologia de biossensorização atual em plataformas únicas capazes de realizar determinação multiplexada na mesma amostra.<sup>33,34</sup> A detecção de vários biomarcadores de AD pode economizar tempo e tornar o diagnóstico mais preciso, bem como diminuir os custos associados.<sup>33,34</sup>

A alta sensibilidade e especificidade são características determinantes na obtenção de biossensores ideais.<sup>35</sup> A integração de nanomateriais na estrutura do biossensor como elementos transdutores de sinal, para mediar o fluxo de corrente, ou como marcadores em elementos de reconhecimento, para indicar a detecção do analito, tem demonstrado resultados promissores para a detecção de biomarcadores.<sup>33,34</sup> Por exemplo, as AuNPs, MWCNTs e o grafeno, quando usados no desenvolvimento de biossensores aumentam significativamente a sensibilidade e especificidade do sistema.<sup>33,34,35</sup>

Assim sendo, as investigações futuras devem focar-se no desenvolvimento de plataformas únicas capazes de analisar múltiplos biomarcadores com excelente sensibilidade, especificidade e estabilidade. Estas características devem ser combinadas com a utilização de pequenos volumes de amostra e com períodos de detecção mais curtos, tornando possível a aplicação dos biossensores na prática clínica.<sup>34</sup>

## **7. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A doença de Alzheimer é uma doença neurodegenerativa incapacitante, com um forte impacto tanto na vida pessoal dos doentes como na sociedade. Perante o envelhecimento da população mundial, é expectável que a taxa de prevalência desta patologia sofra um aumento exponencial nos próximos anos e, conseqüentemente, o impacto socioeconómico também será mais expressivo.

Os biomarcadores desempenham um papel importante na detecção precoce da doença, contudo, a sua aplicação na prática clínica tem sido um desafio graças às limitações inerentes aos métodos de detecção utilizados atualmente. Os biossensores surgem como uma alternativa extremamente promissora para auxiliar no diagnóstico precoce da DA, pois são ferramentas simples, rápidas e baratas, que permitem a detecção de biomarcadores com alta sensibilidade e especificidade.

A detecção precoce irá fornecer dados que permitam compreender melhor a patogénese, desenvolver novos tratamentos e monitorizar os seus efeitos. Além disso, os doentes poderão

ser acompanhados de forma mais próxima ao longo da evolução da doença, que poderá ser retardada ou evitada. A possibilidade de proporcionar aos doentes uma vida mais saudável através do diagnóstico precoce, torna a expansão dos biossensores enquanto poderosos dispositivos bioanalíticos necessária e inevitável.

## BIBLIOGRAFIA

1. Santana, I., & Duro, D. - **Envelhecimento cerebral e demência**. Em M. T. Veríssimo, *Geriatría Fundamental*. (2016) (pp. 159-178). Lidel.
2. World Health Organization and Alzheimer's Disease International. **Dementia: a public health priority**. [Consultado a 5 maio 2021] Disponível em: [https://www.who.int/mental\\_health/publications/dementia\\_report\\_2012/en/](https://www.who.int/mental_health/publications/dementia_report_2012/en/)
3. González, J.T. - As perturbações psicogerítricas. Em E. H. Blanco, *Síndromes Geriátricas*. (2007) (pp. 175-212). Revisfarma.
4. Nunes, B. - **Alzheimer em 50 questões essenciais**. (2014) Lidel.
5. NIH National Institute on Aging (NIA) - **Alzheimer's Disease Fact Sheet - Stages**. [Consultado a 13 maio 2021] Disponível em: <https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers-disease-fact-sheet#stages>
6. Alzheimer's association - **Stages of Alzheimer's** [Consultado a 16 maio 2021] Disponível em: <https://www.alz.org/alzheimers-dementia/stages>
7. Alzheimer's association - **Brain Tour**. [Consultado a 16 maio 2021] Disponível em: [https://www.alz.org/alzheimers-dementia/what-is-alzheimers/brain\\_tour\\_part\\_2](https://www.alz.org/alzheimers-dementia/what-is-alzheimers/brain_tour_part_2)
8. Høgh P. - *Ugeskrift for laeger*. (2017); 179(12), V09160686.
9. Eratne, D., Loi, S. M., Farrand, S., Kelso, W., Velakoulis, D., & Looi, J. C. - **Alzheimer's disease: clinical update on epidemiology, pathophysiology and diagnosis**. *Australasian psychiatry: bulletin of Royal Australian and New Zealand College of Psychiatrists*. (2018); 26(4), 347–357.
10. Kinney J.W., Bemiller S.M., Murtishaw A.S., Leisgang A.M., Salazar A.M., Lamb B.T. - **Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease**. *Alzheimers Dement*. (NY). (2018); 4, 575–590.
11. Kozin, S.A., Makarov, A.A. - **The Convergence of Alzheimer's Disease Pathogenesis Concepts**. *Mol Biol* (2019); 53, 896–903.
12. Chen Y. G. - **Research Progress in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease**. *Chinese medical journal*. (2018); 131(13), 1618–1624.
13. Šerý, O., Povová, J., Míšek, I., Pešák, L., & Janout, V. - **Review paper Molecular mechanisms of neuropathological changes in Alzheimer's disease: a review**. *Folia Neuropathologica*. (2013); 51(1), 1-9.
14. Chu L. W. - **Alzheimer's disease: early diagnosis and treatment**. *Hong Kong medical journal = Xianggang yi xue za zhi*. (2012); 18(3), 228–237.

15. Atri A. - **The Alzheimer's Disease Clinical Spectrum: Diagnosis and Management.** *The Medical clinics of North America.* (2019); 103(2), 263–293.
16. Hane, F. T., Robinson, M., Lee, B. Y., Bai, O., Leonenko, Z., & Albert, M. S. - **Recent Progress in Alzheimer's Disease Research, Part 3: Diagnosis and Treatment.** *Journal of Alzheimer's disease: JAD.* (2017); 57(3), 645–665.
17. Lane, C. A., Hardy, J., & Schott, J. M. - **Alzheimer's disease.** *European journal of neurology.* (2018); 25(1), 59–70.
18. Alzheimer Portugal – **Exames utilizados no diagnóstico.** [Consultado a 04 junho 2021] Disponível em: <https://alzheimerportugal.org/pt/text-0-9-33-21-exames-utilizados-no-diagnostico-de-demencia>
19. NIH National Institute on Aging (NIA) - **Alzheimer's Disease Fact Sheet – Diagnose.** [Consultado a 04 junho 2021] Disponível em: <https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers-disease-fact-sheet#diagnose>
20. Mantzavinos, V., & Alexiou, A. - **Biomarkers for Alzheimer's Disease Diagnosis.** *Current Alzheimer research.* (2017); 14(11), 1149–1154.
21. Weller, J., & Budson, A. - **Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment.** (2018); F1000Research, 7, F1000 Faculty Rev-1161.
22. Jack, C. R., Jr, Bennett, D. A., Blennow, K., Carrillo, M. C., Dunn, B., Haeberlein, S. B., Holtzman, D. M., Jagust, W., Jessen, F., Karlawish, J., Liu, E., Molinuevo, J. L., Montine, T., Phelps, C., Rankin, K. P., Rowe, C. C., Scheltens, P., Siemers, E., Snyder, H. M., Sperling, R., ... Contributors - **NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease.** *Alzheimer's & dementia: the journal of the Alzheimer's Association.* (2018); 14(4), 535–562.
23. Lloret, A., Esteve, D., Lloret, M. A., Cervera-Ferri, A., Lopez, B., Nepomuceno, M., & Monllor, P. - **When Does Alzheimer's Disease Really Start? The Role of Biomarkers.** *International journal of molecular sciences,* (2019); 20(22), 5536.
24. Chrem Mendez, P., Surace, E., Bérghamo, Y., Calandri, I., Vázquez, S., Sevlever, G., & Allegri, R. F. - **Biomarkers for Alzheimer's disease. Where we stand and where we are headed.** *Biomarcadores de enfermedad de Alzheimer. Dónde estamos y hacia dónde vamos. Medicina,* 79(Spec 6/1), (2019); 546–551.
25. Generoso, J. S., Morales, R., & Barichello, T - **Biomarkers in Alzheimer disease: are we there yet?.** *Revista brasileira de psiquiatria (Sao Paulo, Brazil: 1999),* (2020); 42(4), 337–339.
26. Pais, M., Martinez, L., Ribeiro, O., Loureiro, J., Fernandez, R., Valiengo, L., Canineu, P., Stella, F., Talib, L., Radanovic, M., & Forlenza, O. V. - **Early diagnosis and treatment of**

- Alzheimer's disease: new definitions and challenges.** *Revista brasileira de psiquiatria (Sao Paulo, Brazil: 1999)*, (2020); 42(4), 431–441.
27. Lashley, T., Schott, J. M., Weston, P., Murray, C. E., Wellington, H., Keshavan, A., Foti, S. C., Foiani, M., Toombs, J., Rohrer, J. D., Heslegrave, A., & Zetterberg, H. - **Molecular biomarkers of Alzheimer's disease: progress and prospects.** *Disease models & mechanisms*, (2018); 11(5), dmm031781.
  28. Counts, S. E., Ikonovic, M. D., Mercado, N., Vega, I. E., & Mufson, E. J. - **Biomarkers for the Early Detection and Progression of Alzheimer's Disease.** *Neurotherapeutics: the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, (2017); 14(1), 35–53.
  29. Hampel, H., O'Bryant, S. E., Molinuevo, J. L., Zetterberg, H., Masters, C. L., Lista, S., Kiddle, S. J., Batrla, R., & Blennow, K. - **Blood-based biomarkers for Alzheimer disease: mapping the road to the clinic.** *Nature reviews. Neurology*, (2018); 14(11), 639–652.
  30. Zetterberg H. - **Blood-based biomarkers for Alzheimer's disease - An update.** *Journal of neuroscience methods*, (2019); 319, 2–6.
  31. **Biosensors: from personalised medicine to population health.** *EBioMedicine*, (2020); 53, 102746.
  32. Brazaca, L. C., Sampaio, I., Zucolotto, V., & Janegitz, B. C - **Applications of biosensors in Alzheimer's disease diagnosis.** *Talanta*, (2020); 210, 120644.
  33. Shui, B., Tao, D., Florea, A., Cheng, J., Zhao, Q., Gu, Y., Li, W., Jaffrezic-Renault, N., Mei, Y., & Guo, Z. - **Biosensors for Alzheimer's disease biomarker detection: A review.** *Biochimie*, (2018); 147, 13–24.
  34. Carneiro, P., Morais, S., & do Carmo Pereira, M. - **Biosensors on the road to early diagnostic and surveillance of Alzheimer's disease.** *Talanta*, (2020); 211, 120700.
  35. Mobed, A., & Hasanzadeh, M - **Biosensing: The best alternative for conventional methods in detection of Alzheimer's disease biomarkers.** *International journal of biological macromolecules*, (2020); 161, 59–71.
  36. Ameri, M., Shabaninejad, Z., Movahedpour, A., Sahebkar, A., Mohammadi, S., Hosseindoost, S., Ebrahimi, M. S., Savardashtaki, A., Karimipour, M., & Mirzaei, H - **Biosensors for detection of Tau protein as an Alzheimer's disease marker.** *International journal of biological macromolecules*, (2020); 162, 1100–1108.
  37. Kumar, S., Nehra, M., Khurana, S., Dilbaghi, N., Kumar, V., Kaushik, A., & Kim, K. H. - **Aspects of Point-of-Care Diagnostics for Personalized Health Wellness.** *International journal of nanomedicine*, (2021); 16, 383–402.

38. Goble, J. A., & Rocafort, P. T. - **Point-of-Care Testing: Future of Chronic Disease State Management?** *Journal of Pharmacy Practice*, (2017); 30(2), 229–237.
39. Omidfar, K., Ahmadi, A., Syedmoradi, L., Khoshfetrat, S. M., & Larijani, B. - **Point-of-care biosensors in medicine: a brief overview of our achievements in this field based on the conducted research in EMRI (endocrinology and metabolism research Institute of Tehran University of medical sciences) over the past fourteen years.** *Journal of diabetes and metabolic disorders*, (2020); 1–5. Advance online publication.
40. Bhalla, N., Jolly, P., Formisano, N., & Estrela, P. - **Introduction to biosensors.** *Essays in biochemistry*, (2016); 60(1), 1–8.
41. Oliveira, A. E. F.; Pereira, A. C. - **Biossensores e a Indústria Alimentar – Revisão.** *Rev. Virtual Quim.*, (2016); 8 (5), 1311-1333.