



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Miguel Ângelo Martins Ferreira

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Biomarcadores no diagnóstico, prognóstico e monitorização clínica de doenças neurodegenerativas” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação do Dr. André Paiva, do Dr. Pedro Marques e da Professora Doutora Bárbara Rocha, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2022



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Miguel Ângelo Martins Ferreira

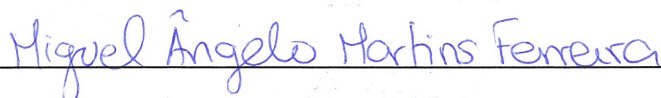
Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Biomarcadores no diagnóstico, prognóstico e monitorização clínica de doenças neurodegenerativas” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação do Dr. André Paiva, do Dr. Pedro Marques e da Professora Doutora Bárbara Rocha, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro 2022

Eu, Miguel Ângelo Martins Ferreira, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2017266482, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Biomarcadores no diagnóstico, prognóstico e monitorização clínica nas doenças neurodegenerativas” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade 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, 9 de setembro de 2022.



(Miguel Ângelo Martins Ferreira)

Agradecimentos

À minha família, em particular aos meus pais e os meus avós, por serem o meu porto de abrigo e por me transmitirem os valores de resiliência e humildade que sempre tomarei como exemplo.

À família que me recebeu na Cidade dos Estudantes, pelas vivências, pela cumplicidade e pelo apoio incondicional. Sem vocês, esta experiência não faria sentido.

Ao NEF/AAC, pelo crescimento pessoal e profissional que me proporcionou e pelas amizades que tive oportunidade de construir durante todo o percurso.

À Professora Doutora Bárbara Rocha, por toda a disponibilidade, orientação e auxílio na elaboração da presente Monografia.

Aos profissionais de excelência com quem tive a oportunidade de contactar no meu Estágio Curricular, por todos os ensinamentos e pelos conselhos imprescindíveis para o meu futuro profissional.

A Coimbra.

Índice

Parte I - Relatório de estágio em farmácia comunitária

Lista de Siglas e Abreviaturas	7
1. Nota Introdutória.....	8
2. Contextualização da Farmácia Estádio	9
3. Análise SWOT	10
3.1 Pontos Fortes.....	10
3.1.1. Equipa Técnica.....	10
3.1.2. Plano de Estágio	10
3.1.3. Serviços prestados pela Farmácia	12
3.2 Pontos Fracos	13
3.2.1 Medicamentos manipulados	13
3.3 Oportunidades.....	13
3.3.1 Aplicação de conhecimentos teóricos	13
3.3.2 Formações complementares	13
3.3.3 Heterogeneidade de utentes.....	14
3.3.4 Situação pandémica	14
3.4 Ameaças	15
3.4.1 Medicamento esgotados/ Esgotados.....	15
3.4.2 Situação Pandémica	15
4. Casos Práticos.....	17
5. Considerações Finais	20
6. Referências Bibliográficas.....	21

Parte II - Relatório de estágio em indústria farmacêutica

Lista de Siglas e Abreviaturas	24
1. Nota Introdutória.....	25
2. Grupo FHC – Laboratórios Basi.....	26
3. Análise SWOT	27
3.1 Pontos Fortes.....	27
3.1.1 Formações Iniciais.....	27
3.1.2 Integração na Equipa	27
3.1.3 Diversidade de Tarefas Realizadas.....	28
3.2 Pontos Fracos	28
3.2.1 Duração do estágio	28
3.2.2 Sistemas Informáticos	28
3.3 Oportunidades.....	29
3.3.1 Aplicação dos conhecimentos teóricos	29
3.3.2 Inspeção do INFARMED	29
3.3.3 Contacto com entidades do setor.....	30
3.4 Ameaças	30
3.4.1 Estágio em Indústria Farmacêutica não creditado.....	30
4. Considerações Finais	31
5. Referências Bibliográficas.....	31

Parte III - Biomarcadores no diagnóstico, prognóstico e monitorização clínica de doenças neurodegenerativas

1. Introdução.....	36
2. Biomarcadores e doenças neurodegenerativas	37
2.1 Definição	37
2.2 Classificação de biomarcadores.....	38
2.3 Características de um biomarcador ideal.....	38
2.4 A importância dos biomarcadores nas doenças neurodegenerativas	39
2.4.1 Prática clínica	39
2.4.2 Ensaios clínicos e desenvolvimento de novos fármacos	40
2.4.3 Área regulamentar.....	41
2.5 Desafios no desenvolvimento de biomarcadores nas doenças neurodegenerativas.....	42
3. Doenças Neurodegenerativas	43
3.1 Doença de Alzheimer	43
3.1.1 Epidemiologia.....	43
3.1.2 Caracterização clínica e fisiopatologia	43
3.1.3 Biomarcadores na Doença de Alzheimer	45
3.2 Atrofia Muscular Espinhal.....	47
3.2.1 Epidemiologia.....	47
3.2.2 Caracterização clínica e fisiopatologia	48
3.2.3 Biomarcadores da Atrofia Muscular Espinhal.....	49
3.3 Doença de Huntington	51
3.3.1 Epidemiologia.....	51
3.3.2 Caracterização clínica e fisiopatologia	52
3.3.3 Biomarcadores na Doença de Huntington	52
4. Conclusão	55
5. Referências Bibliográficas:.....	56

PARTE I

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária

Farmácia Estádio, Coimbra

Lista de Siglas e Abreviaturas

ANF	Associação Nacional de Farmácias
DGS	Direção-Geral da Saúde
FE	Farmácia Estádio
FFUC	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
MNSRM	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
MSRM	Medicamentos Sujeitos a Receita Médica
PIM	Preparação Individualizada da Medicação
PNV	Plano Nacional de Vacinação
PTS	Programa de Troca de Seringas
SIGREM	Sistema Integrado de Gestão de Resíduos de Embalagens e Medicamentos
SPMS, EFE	Serviços Partilhados do Ministério da Saúde
SWOT	do inglês, <i>Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats</i>
TRAg	Testes Rápidos de Antígeno
VALORMED	Sociedade Gestora de Resíduos de Embalagens e Medicamentos

I. Nota Introdutória

No contexto do plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) e de acordo com a Diretiva 2013/55/EU do Parlamento Europeu e Conselho de 20 de novembro de 2013¹, no que diz respeito à formação e aquisição do título do Farmacêutico, a realização de um estágio em Farmácia Comunitária é obrigatória. Esta obrigatoriedade prende-se com a necessidade que os futuros Farmacêuticos têm de aplicarem, em contexto prático, os seus conceitos teóricos apreendidos, assim como adquirir novas valências essenciais para a formação de um profissional de saúde qualificado e um especialista do medicamento.

A Farmácia Comunitária é reconhecida pelo utente como um espaço de saúde, representando o primeiro e o último contacto que o mesmo tem com os serviços de saúde. Por esse motivo, a proximidade do Farmacêutico Comunitário com as populações assume uma especial relevância no que concerne ao uso racional e responsável dos medicamentos e à promoção de hábitos saudáveis na sociedade. Assim, o Farmacêutico tem a responsabilidade premente de exercer a sua profissão de forma ética e rigorosa, procurando sempre atualizar os seus conhecimentos científicos e adaptar-se às oportunidades e ameaças do setor.

Assim, tive a oportunidade de realizar o meu Estágio Curricular na Farmácia Estádio, no período compreendido entre janeiro e abril de 2022, sob orientação do Dr. André Filipe Paiva Loureiro, que representou um momento ímpar na minha formação académica pelas competências desenvolvidas, mas também pelo profissionalismo que testemunhei e pelos desafios que tive de superar. Por conseguinte, na análise SWOT (do inglês, *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*) seguinte, será dado destaque aos aspetos que considero mais importantes na passagem pela Farmácia Comunitária e, especialmente, no meu desenvolvimento enquanto futuro farmacêutico.

2. Contextualização da Farmácia Estádio

A Farmácia Estádio, doravante designada FE, assume uma localização central e privilegiada na cidade de Coimbra, encontrando-se inserida no edifício do Estádio Cidade de Coimbra, no n.º 11 da Rua D. João III e, como tal, usufrui de uma enorme proximidade a várias zonas residenciais e comerciais, assim como diversos estabelecimentos de saúde. No que diz respeito ao seu horário de funcionamento, a FE tem um horário bastante alargado, estando aberta ao público entre as 8h30min e as 21h nos dias úteis e entre as 9h e as 19h aos sábados, estando encerrada aos domingos e feriados.

Relativamente à equipa da FE, a mesma é constituída pela Dra. Ana Isabel Costa Neves Rebelo, que assume a Direção Técnica e a Propriedade da farmácia, um Farmacêutico Substituto, três Farmacêuticos, duas Técnicas de Farmácia, duas Técnica Auxiliares de Farmácia e um Caixeiro.

As instalações da FE cumprem o disposto na Deliberação n.º 1502/2014², de 3 de julho, que regulamenta as áreas mínimas das farmácias e respetivas divisões, de acordo com o Artigo 29º do Decreto-Lei n.º 307/2007 de 31 de agosto que corresponde ao Regime Jurídico das Farmácias de Oficina. Assim, as instalações da FE distribuem-se apenas num piso, com áreas bem demarcadas, contendo a sala de atendimento ao público com 6 balcões individualizados, local de receção e gestão de encomendas, armazém, laboratório, gabinetes de atendimento ao utente, gabinete de Direção Técnica, sala de Preparação Individualizada da Medicação (PIM), instalações sanitárias e copa.

A FE pertence ao grupo maisfarmácia, uma empresa de consultoria e prestação de serviços, cuja principal premissa é potenciar as vendas das farmácias associadas, através da centralização de compras, negociações e serviços. Adicionalmente, insere-se na rede de Farmácias Portuguesas da Associação Nacional de Farmácias (ANF), permitindo aos seus utentes usufruir das vantagens do Cartão Saúde.

Os principais fornecedores da FE são a plural+udifar – Cooperativa Farmacêutica e a Alliance Healthcare, S.A. Para além destes, a FE recebe produtos vindos diretamente de laboratórios e outros fornecedores, como é o caso dos medicamentos de uso veterinário, produtos de dermofarmácia e cosmética, suplementos alimentares, produtos homeopáticos e material de penso e ortopedia mais específicos.

3. Análise SWOT

3.1 Pontos Fortes

3.1.1. Equipa Técnica

A equipa técnica da FE é uma equipa jovem, proativa e dinâmica, constituída por profissionais qualificados e experientes. Esta é liderada pela Dr. Ana Isabel Rebelo que, juntamente com o Farmacêutico Substituto Dr. André Paiva, exerce uma direção técnica exigente e vigilante. O profissionalismo e os conhecimentos técnico-científicos são transversais a todos os elementos desta equipa e, por esse motivo, a FE diferencia-se e conquista a preferência dos seus utentes, tendo um vasto número de clientes fidelizados.

Esta equipa destaca-se pela organização interna, uma vez que existem responsabilidades e tarefas bem definidas atribuídas a cada um dos seus elementos, o que contribui indubitavelmente para a produtividade e a coordenação do trabalho desenvolvido na Farmácia. Enquanto estagiário, esta organização facilitou profundamente a minha integração na equipa, porque me permitiu orientar as minhas dúvidas mais específicas e, deste modo, obter o esclarecimento mais adequado.

Desde o primeiro dia que me esforcei para corresponder aos valores de responsabilidade, organização e entejuda que regem a equipa da FE e, como tal, ao longo do meu Estágio Curricular, todos participaram ativamente na minha aprendizagem gradual e no esclarecimento de dúvidas, contribuindo, desta forma, para uma experiência muito enriquecedora e diversificada que me permitiu desenvolver novas competências e consolidar os meus conhecimentos prévios.

3.1.2. Plano de Estágio

O Plano de Estágio apresentado pela E é um plano estruturado e dinâmico, seguindo uma sequência lógica de adaptação e aprendizagem gradual que permite aos estagiários adquirir as competências necessárias a cada fase para avançar para a seguinte.

O estágio iniciou-se com a realização das tarefas no *backoffice*, sendo que as primeiras tarefas incidiram essencialmente na receção de encomendas provenientes dos mais diversos armazenistas, controlo dos prazos de validade, armazenamento dos produtos, assim como devoluções a laboratórios e distribuidores. Esta fase permitiu-me conhecer a organização interna da farmácia, nomeadamente os locais de armazenamentos dos produtos e disposição da própria farmácia, o que viria a ser útil durante o atendimento, mas também perceber quais os medicamentos e produtos de saúde e bem-estar disponíveis e compreender quais

têm maior ou menor rotação. Desta forma, fui também introduzido brevemente às funcionalidades do sistema informático Sifarma 2000® e do Novo Módulo de Atendimento. Adicionalmente, pude observar e participar em tarefas tais como a gestão do receituário de acordo com os diversos planos de comparticipação, gestão de entrada e saída de psicotrópicos, regularização de notas de devolução e crédito, bem como registo semanal das condições de humidade e temperatura recolhidos em pontos estratégicos das instalações. Ainda ao longo o estágio, teve início uma reorganização substancial do *front office* da Farmácia, na qual tive a oportunidade de contribuir.

A fase inicial do estágio foi também marcada pela enorme afluência dos utentes à FE para a realização de Testes Rápidos de Antígeno (TRAg) à COVID-19. Assim, enquanto estagiário, participei ativamente na marcação de testes, na admissão dos utentes na Farmácia e na emissão de resultados através da plataforma *online* das Farmácias Portuguesas, que comunica simultaneamente com o Ministério da Saúde e o próprio utente.

Ainda durante esta fase, sob supervisão de um profissional responsável, tive a oportunidade de auxiliar no processo de PIM podendo, deste modo, ter um primeiro contacto com este serviço. No que diz respeito às tarefas desenvolvidas, destacar a preparação de dispositivos dispensadores de medicação e a intervenção no aprovisionamento, gestão de *stocks* e supervisão do equipamento de preparação individualizada da medicação no processo de selagem automática das saquetas. Este envolvimento permitiu não só reconhecer o benefício que este serviço pode ter na gestão de planos terapêuticos complexos, como também familiarizar-me com princípios ativos e respetivas marcas comerciais, assim como a apresentação, posologia e aparência das diferentes formas farmacêuticas, o que se revelou particularmente útil na fase de atendimento ao público.

Findo este período, iniciou-se a transição gradual para a fase de atendimento ao balcão. Numa primeira fase de carácter observacional, tive a oportunidade de acompanhar os atendimentos efetuados pelos colaboradores da FE. Nestes momentos pude perceber como deve ser a abordagem do utente durante o atendimento, assim como é feita a regularização de receitas eletrónicas e manuais. Assim, os primeiros atendimentos ao balcão iniciaram-se sobre estreita supervisão de um colaborador da farmácia, sendo fundamental o seu auxílio na questão do aconselhamento ao utente e no esclarecimento de dúvidas que surgiam no contexto prático. Progressivamente, este acompanhamento próximo permitiu adquirir níveis crescentes de autonomia e confiança e, conseqüentemente, desenvolver o meu próprio método de trabalho, procurando sempre corresponder aos padrões de profissionalismo e rigor impostos pela FE.

3.1.3. Serviços prestados pela Farmácia

Com o desígnio de satisfazer as necessidades dos seus utentes e promover hábitos saudáveis na população, a FE disponibiliza aos seus utentes um conjunto variado de serviços.

Relativamente aos Serviços Farmacêuticos propriamente ditos, destacam-se a avaliação da pressão arterial, a determinação de parâmetros bioquímicos como glicémia, colesterol total e triglicéridos, preparação de medicamentos manipulados, administração de injetáveis e vacinas não incluídas no Plano Nacional de Vacinação (PNV) e Preparação Individualizada de Medicação (PIM) – para particulares e instituições de cariz social do distrito de Coimbra. Do mesmo modo, numa evidente adaptação à situação pandémica, a FE realiza ainda Testes Rápidos de Antigénio (TRAg) para deteção do vírus SARS-CoV-2, responsável pela doença COVID-19.

Complementarmente, a FE participa no Programa de Troca de Seringas (PTS), reimplementado nas Farmácias Comunitárias em 2016, pela Direção-Geral de Saúde (DGS) e pelos Serviços Partilhados do Ministério da Saúde (SPMS, EPE), tendo como objetivo evitar a partilha de seringas e outros materiais de consumo, promover comportamentos sexuais seguros e prevenir a transmissão de doenças.

A FE integra ainda o Sistema Integrado de Gestão de Resíduos de Embalagens de Medicamentos (SIGREM), coordenado pela Sociedade Gestora de Resíduos de Embalagens e Medicamentos (VALORMED). Este sistema permite uma recolha e tratamento dos resíduos de medicamento, contribuindo para a preservação do ambiente e proteção da saúde pública.

Num âmbito mais abrangente, a FE providencia aos seus utentes consultas de Podologia e consultas de Nutrição integradas na dieta *EasySlim*[®], o que me permitiu interagir com outros profissionais de saúde, cujos serviços são passíveis de ser prestados na Farmácia.

Enquanto estagiário tive a oportunidade de observar e participar ativamente nos serviços prestados pela FE, o que me permitiu interagir com o utente em contextos distintos e perceber a abrangência e o impacto que os serviços prestados na Farmácia podem ter na comunidade.

3.2 Pontos Fracos

3.2.1 Medicamentos manipulados

A preparação de medicamentos manipulados é um dos serviços diferenciadores que são prestados pela FE. Por constituírem um meio de satisfazer as necessidades terapêuticas e características individuais de utentes com condições específicas, a preparação de medicamentos manipulados está exclusivamente sob a responsabilidade do farmacêutico e, deste modo, enquanto futuro farmacêutico considero uma área fundamental à qual deve ser dado destaque no estágio.

Durante o meu estágio curricular, tive a oportunidade de observar pontualmente a preparação de medicamentos manipulados, contudo considero que a componente mais prática foi descurada, não tendo tido oportunidade de adquirir e consolidar conhecimentos técnico-científicos nesse âmbito.

3.3 Oportunidades

3.3.1 Aplicação de conhecimentos teóricos

O estágio curricular corresponde ao culminar de cinco anos de formação predominantemente teórica, que possibilita a consolidação e a aplicação conhecimentos adquiridos num contexto prático. Deste modo, o estágio surge como um novo e desafiante contexto de aprendizagem, que permite estabelecer o paralelismo entre o plano de estudos do MICF e a realidade laboral, nomeadamente na Farmácia Comunitária. Neste âmbito, dou especial relevo às Unidades Curriculares de Organização e Gestão Farmacêutica e Comunicação e Marketing Farmacêutico; Farmacoterapia e Indicação Terapêutica, no aconselhamento aquando da dispensa de MSRM e MNSRM; Farmácia Clínica, a nível dos serviços farmacêuticos prestados na farmácia, nomeadamente a PIM; Dermofarmácia e Cosmética, Gestão de Informação em Saúde e Fitoterapia, no aconselhamento na dispensa de MNSRM e produtos de saúde e bem-estar.

3.3.2 Formações complementares

As Ciências Farmacêuticas são uma área em constante desenvolvimento, com o surgimento de novos conhecimentos, novos princípios ativos, novos produtos e novos dispositivos. Por esse motivo, e como postulado no Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos, “o Farmacêutico deve promover a atualização permanente dos seus conhecimentos técnicos e científicos”, de forma a munir-se das competências necessárias ao desempenho da sua função à luz da evidência atual.³

No decorrer do meu estágio curricular, tive a oportunidade de presenciar alguns momentos de formação, nomeadamente no âmbito da dermocosmética e da puericultura. Paralelamente, foram prestados também alguns esclarecimentos adicionais por parte dos próprios farmacêuticos relativamente a alguns produtos específicos disponíveis na farmácia e, deste modo, colmatar algumas lacunas, incutir mais segurança e confiança nos atendimentos e, conseqüentemente, aumentar a satisfação dos utentes.

3.3.3 Heterogeneidade de utentes

Como referido anteriormente, a FE usufrui de uma localização privilegiada na cidade de Coimbra, estando próxima de zonas residenciais e comerciais com elevada densidade populacional, assim como diversas clínicas médicas. Deste modo, não obstante o vasto número de utentes fidelizados, a FE dispõe ainda de uma considerável heterogeneidade de utentes, com necessidades e características específicas, que precisam de ser supridas e, como tal, há uma constante necessidade de adaptação por parte dos seus colaboradores.

Assim, considero que esta heterogeneidade de utentes constituiu uma oportunidade no meu estágio, na medida em que me permitiu confrontar com situações diversas que implicaram, necessariamente, diferentes abordagens, permitindo-me, enquanto estagiário, desenvolver as minhas capacidades ao nível da comunicação em saúde.

3.3.4 Situação pandémica

A situação pandémica causou forçosamente constrangimentos na rotina das Farmácias Comunitárias, o que despoletou uma necessidade de adaptação a esta nova realidade. Naturalmente, a FE não foi exceção, levando a cabo várias iniciativas para continuar a corresponder às necessidades dos seus utentes e, deste modo, garantir o acesso à medicação e assegurar o cumprimento dos planos terapêuticos.

A dispensa gratuita de medicamentos ao domicílio, para além de uma medida implementada no âmbito da pandemia de COVID-19, foi também uma estratégia da FE para cativar novos utentes e assegurar a resposta às necessidades dos utentes já fidelizados e que não tinham a possibilidade de se deslocar à Farmácia. Assim, enquanto estagiário, o atendimento telefónico que precedia as entregas ao domicílio assumiu um dos primeiros contactos que estabeleci com os utentes e que contribuiu para o meu desempenho no atendimento ao balcão.

No caso de fármacos de dispensa exclusiva pelos serviços farmacêuticos hospitalares, foi também protocolada a sua dispensa em regime de ambulatório para garantir a continuidade terapêutica dos doentes na impossibilidade destes se deslocarem aos hospitais. Estando este

serviço sob a responsabilidade estrita de um farmacêutico, tive a oportunidade de participar de forma observacional na receção e dispensa da medicação, bem como conhecer as funcionalidades do Sifarma® Clínico.

Adicionalmente, a FE aderiu também à realização de Testes Rápidos de Antígeno (TRAg) para o SARS-CoV-2, sendo que a minha participação esteve essencialmente ligada à marcação dos testes, admissão dos utentes na Farmácia, bem como emissão e comunicação dos resultados aos utentes e Autoridades de Saúde. Não obstante, independentemente do resultado do teste, também prestava aconselhamento sobre as dúvidas dos utentes, bem como as medidas de prevenção de propagação da doença a adotar.

3.4 Ameaças

3.4.1 Medicamento esgotados/ Esgotados

Os medicamentos rateados e/ou esgotados, muitas vezes por tempo indeterminado, é uma problemática com a qual as farmácias se têm debatido recorrentemente nos últimos anos, com a agravante que afeta, na sua maioria, medicamentos sem alternativa terapêutica.

Assim, durante o meu estágio, deparei-me inúmeras vezes com prescrições que incluíam medicamentos esgotados e, sem que fosse possível encomendar junto dos armazenistas, via-me impedido de satisfazer as necessidades do utente. Esta realidade, para além da problemática iminente da suspensão da terapêutica sem indicação médica, levantava também alguma desconfiança por parte dos utentes relativamente à inimizabilidade da farmácia e, mais especificamente, dos estagiários.

A fim de colmatar este descontentamento, existiu um conjunto de iniciativas que foram tomadas inúmeras vezes, dependendo a situação, nomeadamente contactar o médico prescriptor ou aconselhar o utente a fazê-lo a fim de encontrar uma alternativa terapêutica; sugerir um medicamento similar, quando possível; ou contactar farmácias e/ou delegados dos laboratórios do medicamento em questão.

3.4.2 Situação Pandémica

A fase inicial do estágio coincidiu com o período em que vigorava o regime excepcional de comparticipação dos testes rápidos de antígeno (TRAg) à COVID-19 nas Farmácias. Neste âmbito, verificou-se uma elevada afluência de utentes à FE que procuravam este serviço, o que, inevitavelmente, desencadeou uma sobrecarga de trabalho de toda a equipa.

Assim, nesta fase os estagiários ficaram essencialmente responsáveis pela marcação dos testes, admissão dos utentes na farmácia e, por fim, pela emissão e comunicação do resultado,

sem grande oportunidade para nos dedicarmos a outras tarefas do quotidiano profissional da Farmácia Comunitária.

Nestas circunstâncias, a disponibilidade dos colaboradores da FE para ensinar os estagiários acabava por estar limitada e, por isso, o processo de aprendizagem e a introdução à realização novas tarefas decorreram de uma forma mais lenta. Esta situação tornou-se mais evidente com o adiamento de algumas formações, nomeadamente, a formação do gabinete do utente que, por sua vez, prejudicou a colaboração dos estagiários na prestação deste serviço aos utentes.

4. Casos Práticos

Caso Prático I

Utente do sexo masculino com idade compreendida entre os 40 e 50 anos dirige-se à FE apresentando-se com ardor e desconforto na região retal, especialmente associados à defecação, uma vez que tinha alguma dificuldade em evacuar. Tendo em vista a sintomatologia descrita, questionei o utente quanto à existência de sangramento após o esforço defecatório, o qual respondeu afirmativamente. Trata-se, portanto, de uma situação sugestiva de doença hemorroidária interna.

Em termos farmacológicos, aconselhei a pomada rectal Faktu[®] (MNSRM passível de indicação farmacêutica), que tem indicação no tratamento de hemorroidas não complicadas. Em termos de substâncias ativas, esta pomada é constituída por policresuleno, que atua como hemostático local e antisséptico, e por cinchocaína, que é um anestésico local⁴. A ação combinada destas substâncias elimina a dor, prurido e exsudação, impedindo a inflamação e promovendo a regeneração dos tecidos. Adicionalmente, recomendei também a toma de Flabien[®] 1000mg que, sendo constituído por bioflavonóides, tem ação venotrópica e está indicado para o tratamento de sintomas relacionadas com a crise hemorroidária aguda⁵ e, por isso, se destina a tratamentos de curta duração.

No que diz respeito a medidas não farmacológicas, recomendei essencialmente medidas dietéticas para amolecer as fezes e evitar o esforço defecatório, nomeadamente o aumento da ingestão de líquidos e fibras. Adicionalmente, visto o utente apresentar algum ardor na região perianal, aconselhei a lavagem com a espuma de limpeza Procto-Eze[®]. Por fim, alertei o utente para a necessidade de consultar um médico no caso de persistência dos sintomas.

Caso Prático II

Utente do sexo feminino com idade compreendida entre os 20 e os 30 anos dirige-se à FE com queixas de comichão nos pés e com descamação e fissuras nos espaços entre os dedos.

Perante esta sintomatologia constatei que se tratava de uma infeção fúngica interdigital. Assim, aconselhei o Canesten[®] 10mg/g creme que está indicado para o tratamento de infeções fúngicas da pele causadas por dermatófitos, cuja substância ativa é o clotrimazol, com indicação para aplicar 2 (duas) a 3 (vezes) por dia durante 3 (três) a 4 (quatro) semanas.⁶ Para além deste produto, recomendei também a utilização concomitante do Canesten[®] 10mg/g pó cutâneo para aplicar nas meias e sapatos que utilizar para absorver a humidade⁷ e, desta forma, atuar de forma sinérgica no tratamento da infeção.

Para além das medidas farmacológicas, recomendei também a higiene e a secagem adequadas dos pés de modo a evitar a acumulação de humidade, especialmente na zona entre os dedos. Adicionalmente, aconselhei também para que, sempre que possível, deixar os pés “respirar”. Por fim, alertei para o facto de os tratamentos de infeções fúngicas serem prolongados e que, mesmo após o desaparecimento dos sintomas, é fundamental que sejam cumpridos para evitar recidivas.

Caso Prático III

Utente com cerca de 60 anos dirige-se à farmácia com queixas de diarreia aguda, procurando algo para “aliviar os sintomas”. Quando questionado quanto à duração dos sintomas, o utente referiu que tinham começado no dia anterior e que esperava sentir alguma melhoras no dia seguinte, mas tal não se verificou. Relativamente a medicação habitual, indicou que apenas tomava “o medicamento da tensão e o do colesterol”. Referiu, no entanto, que na sequência de uma cirurgia dentária tinha tomado o Clavamox[®]. Trata-se, portanto, de um medicamento da classe dos antibióticos que contém amoxicilina e ácido clavulânico, estando frequentemente associado ao comprometimento da flora intestinal e, conseqüentemente, poderá conduzir a episódios de diarreia.⁸

Em termos de dispensa, aconselhei o probiótico UL-50[®] – 1 cápsula, 3 vezes ao dia – que contém a levedura *Saccharomyces boulardii*, contribuindo para a restituição do equilíbrio da microbiota e redução dos sintomas da diarreia⁹, assim como a solução de re-hidratação Dioralyte[®] para restabelecer o equilíbrio eletrolítico.¹⁰ Para coadjuvar este tratamento, foram também apresentadas medidas não farmacológicas ao utente, nomeadamente a ingestão de líquidos para evitar a desidratação, evitando os alimentos ricos em gordura, açúcar e fibras. No caso de os sintomas não resolverem em 3 dias, o utente dever-se-ia dirigir ao médico.

Caso Prático IV

Utente com cerca de 45 anos dirige-se à FE com queixas de obstipação, referindo que já se prolongava por alguns dias, tendo constantemente uma sensação de defecação incompleta. Adicionalmente, a utente acrescentou que não conseguia identificar nenhuma razão para esta situação. Numa primeira abordagem, para um alívio imediato, aconselhei o recurso ao Microlax[®]. Trata-se de um laxante de contacto que estimula o peristaltismo intestinal, sendo constituído por citrato de sódio (450mg/5mL) e laurilsulfoacetato de sódio (45mg/5mL) em microclisteres, com indicação para aplicar 1 (uma) a 2 (duas) vezes por dia¹¹. Perante esta sugestão, a utente referiu não se sentir muito à vontade para o método de aplicação destes dispositivos e, por isso, optei por recomendar um medicamento com o mesmo mecanismo

de ação, mas em comprimidos e contendo bisacodilo, o Mordelax^{®12} - semelhante ao conhecido Dulcolax^{®13}, mas economicamente mais rentável para a farmácia e para o utente. Assim, alertei para o facto sua toma estar recomendada para curtos períodos e o seu efeito ocorrer cerca de 6 (seis) a 12 (doze) horas após a toma, sendo preferível tomar ao deitar. Adicionalmente, a longo prazo, recomendei a ingestão de uma dieta rica em fibras e líquidos e a adoção hábitos regulares de atividade física e de defecação, de forma a evitar a recorrência da sintomatologia e limitar o uso de laxantes. No caso de subsistência dos sintomas, recomendei à utente que se dirigisse ao médico.

Caso Prático V

Utente com idade compreendida entre os 20 e os 30 anos dirige-se à FE com a intenção de adquirir produtos para a sua rotina diária de cuidado da pele, nomeadamente, ao nível da limpeza e da hidratação. A utente referiu apresentar uma “pele oleosa com tendência para a formação de borbulhas e poros visíveis” e, portanto, tratava-se de um cuidado de pele mais específico e não comedogénico. Perante esta solicitação apresentei uma associação de produtos da gama EFFACLAR da marca La Roche Posay[®]: um gel purificante com efeito *micropeeling*, uma esponja de limpeza de *konjac* e um creme hidratante com efeito *mate*, com indicação para aplicar 2 vezes por dia, de manhã e à noite. Assim, o gel purificante com efeito *micropeeling*, cujos principais constituintes são ácido salicílico e LHA, e a esponja de *konjac* asseguram, respetivamente, a esfoliação química e física da pele, desobstruindo os poros e controlando o excesso de sebo^{14,15}. De forma sinérgica, o creme hidratante matifica a pele e reduz o tamanho dos poros, tornando-os menos visíveis.

5. Considerações Finais

Finda esta etapa final do meu percurso académico, considero que o Estágio Curricular na Farmácia Estádio foi uma experiência pautada por novas aprendizagens e consolidação de conhecimentos técnico-científicos adquiridos no âmbito do MICE. Sempre sobre a tutela dos profissionais de excelência que constituem a equipa desta farmácia, foram-me transmitidos os princípios basilares que devem orientar o Ato Farmacêutico: responsabilidade, ética e competência. Assim, para além do crescimento profissional, tive ainda a oportunidade de desenvolver valências de carácter comunicativo e humano que futuramente constituirão uma importante ferramenta enquanto profissional do setor farmacêutico.

Graças ao estágio na FE adquiri uma visão mais abrangente daquele que pode ser o papel do farmacêutico na Farmácia Comunitária e do valor que lhe é reconhecido pela sociedade em geral enquanto agente de saúde. Como tal, o estágio permitiu-me tomar consciência da complexidade inerente à profissão e dos desafios que se impõe no quotidiano do Farmacêutico Comunitário na promoção do uso racional do medicamento e na prestação de serviços ao utente. Assim, durante este período, foi ainda perceptível a importância destes profissionais nortear a sua atividade com um sentido de constante superação e atualização, centrando-se na saúde e bem-estar do utente.

6. Referências Bibliográficas

1. PARLAMENTO EUROPEU E CONSELHO DA UNIÃO EUROPEIA - Diretiva 2013/55/UE do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de novembro de 2013. **Jornal Oficial da União Europeia**. 2013:2013) 132–170.
2. INFARMED I.P. - GABINETE JURÍDICO E CONTENCIOSO - Deliberação n.º 1502/2014, de 3 de julho. **Legislação Farmacêutica Compilada**. 2014) 2–4.
3. DIÁRIO DA REPÚBLICA - Ordem Dos Farmacêuticos - Código Deontológico. 2021).
4. INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE I.P. - **Resumo das Características do Medicamento - Faktu** [Consult. 18 mai. 2022]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
5. INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE I.P. - **Resumo das Características do Medicamento - Flabien 1000 mg** [Consult. 18 mai. 2022]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
6. INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE I.P. - **Resumo das Características do Medicamento - Canesten 10 mg/g creme** [Consult. 19 mai. 2022]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
7. INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE I.P. - **Resumo das Características do Medicamento - Canesten 10 mg/g pó cutâneo** [Consult. 19 mai. 2022]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
8. INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE I.P. - **Resumo das Características do Medicamento - Clavamox DT** [Consult. 19 mai. 2022]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
9. INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE I.P. - **Resumo das Características do Medicamento - UL-250 cápsulas** [Consult. 19 mai. 2022]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>

10. KORANGI - **Dioralyte** [Consult. 18 mai. 2022]. Disponível em: <https://www.korangi-dioralyte.eu/>
11. INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE I.P. - **Resumo das Características do Medicamento - Microlax** [Consult. 19 mai. 2022]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
12. ATRAL - **Moderlax** [Consult. 18 mai. 2022]. Disponível em: <https://www.atral.pt/products/moderlax/>
13. INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE I.P. - **Resumo das Características do Medicamento - Dulcolax** [Consult. 19 mai. 2022]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
14. LA ROCHE POSAY - **EFFACLAR MATE - Hidratante de Rosto Matificante** [Consult. 18 mai. 2022]. Disponível em: <https://www.laroche-posay.pt/effaclar/effaclar-mat>
15. LA ROCHE POSAY - **EFFACLAR Gel Purificante com Efeito Micropeeling** [Consult. 18 mai. 2022]. Disponível em: <https://www.laroche-posay.pt/effaclar/gel-purificante-com-efeito-micropeeling-effaclar>

PARTE II

Relatório de Estágio Curricular em Indústria Farmacêutica

Laboratórios Basi – Indústria Farmacêutica, S.A.

Lista de Siglas e Abreviaturas

BASI	Laboratórios Basi – Indústria Farmacêutica, S.A.
BPD	Boas Práticas de Distribuição
BPF	Boas Práticas de Fabrico
CAPA	do inglês, <i>Corrective and Preventive Action</i>
GMP	do inglês, <i>Good Manufacturing Practices</i>
I&D	Investigação e Desenvolvimento
INFARMED	Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.
QP	do inglês, <i>Qualified Person</i>
QTA	do inglês, <i>Quality/ Technical Agreement</i>
SGQ	Sistema de Gestão da Qualidade
SOP	do inglês, <i>Standard Operating Procedure</i>
SWOT	do inglês, <i>Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats</i>

I. Nota Introdutória

O Farmacêutico, enquanto autoridade do medicamento, intervém durante todo o ciclo de vida do medicamento, garantindo elevados padrões de qualidade, segurança e eficácia.

Para além do estágio obrigatório em Farmácia Comunitária, a Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra proporciona aos seus estudantes a possibilidade de realizar um estágio de carácter facultativo e diferenciador em Indústria Farmacêutica, estabelecendo para o efeito protocolos com Entidades Externas do setor, nomeadamente os Laboratórios Basi. Tratando-se de uma das saídas profissionais que desde cedo me despertou mais interesse, no estágio em Indústria Farmacêutica tive a oportunidade experienciar o contexto profissional numa empresa do setor, que me permitiu cimentar os conhecimentos adquiridos e desenvolver novas competências indispensáveis enquanto futuro profissional.

O Estágio Curricular nos Laboratórios Basi teve a duração de três meses, decorrendo entre maio e julho de 2022. Durante este período integrei a equipa da Direção Técnica dos Laboratórios Basi, sob a orientação do Dr. Pedro Marques, que desempenha o cargo de *Qualified Person (QP)* na organização.

Com o presente relatório, redigido sob a forma de análise SWOT (do inglês, *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*), pretende-se uma contextualização e apreciação crítica desta experiência profissional na Direção Técnica dos Laboratórios Basi.

2. Grupo FHC – Laboratórios Basi

O grupo FHC é um dos mais relevantes grupos empresariais do setor farmacêutico em Portugal, cobrindo todo o ciclo de vida do medicamento desde área industrial, distribuição no mercado ambulatorio e hospitalar, exportação e internacionalização, I&D até à área da consultoria farmacêutica. Este grupo inicia a sua fundação com a criação da empresa FHC | Farmacêutica em 1998, dedicada ao mercado internacional do medicamento consolidando a sua posição no setor da indústria farmacêutica com a aquisição e dinamização dos Laboratórios Basi em 2003.¹⁶

Os Laboratórios Basi – Indústria Farmacêutica, S.A é uma empresa do setor farmacêutico sediada em Mortágua, de capitais privados exclusivamente nacionais, com uma história de mais de 60 anos. Os BASI integram duas unidades industriais, dedicando a sua atividade ao desenvolvimento, fabrico e comercialização de formas farmacêuticas injetáveis, líquidas e semissólidas, quer de marca própria, quer para terceiros. Atualmente, dispõem de um portefólio com mais de 240 medicamentos, que cobrem 17 áreas terapêuticas, consolidando a sua presença em mais de 60 países.¹⁷

3. Análise SWOT

3.1 Pontos Fortes

3.1.1 Formações Iniciais

O estágio em Indústria Farmacêutica nos BASI iniciou-se com dois dias consecutivos de formações de âmbito geral que são ministradas a todos os novos colaboradores da empresa e que incluem uma visita às instalações. Estas formações de integração, numa primeira instância, têm como objetivo a apresentação do Grupo FHC e dos BASI. As temáticas são, geralmente, transversais aos vários departamentos da organização e abordam, entre outros, princípios gerais das Boas Práticas de Fabrico (BPF), Boas Práticas de Distribuição (BPD) e Boas Práticas de Documentação e Registos, assim como noções de Farmacovigilância e de Gestão Ambiental e Segurança no Trabalho. Adicionalmente, foi ainda dada uma formação sobre o módulo documental do *Q-Pulse*[®], que constitui um dos principais softwares do Sistema de Gestão da Qualidade.

Para integrar a Direção Técnica enquanto estagiário e desempenhar as tarefas propostas, é necessário conhecer a dinâmica interna do departamento e adquirir conhecimentos específicos. Assim, numa primeira fase, a leitura e análise da documentação de suporte dos BASI permitiu compreender os procedimentos internos afetos à Direção Técnica que serviram como base para o trabalho elaborado. Complementarmente, tive ainda a oportunidade de aprofundar os conhecimentos sobre as BPF, que se encontram descritas no *EudraLex Volume 4 – Good Manufacturing Practices (GMP) guidelines*.

Estas formações revelaram-se imprescindíveis durante o período de estágio para conhecer a indústria farmacêutica onde viria a ser inserido e, mais importante, para realizar as tarefas de rotina propostas em conformidade com os procedimentos internos e com as *guidelines* pré-estabelecidas.

3.1.2 Integração na Equipa

Os colaboradores dos BASI, em geral, e da Direção Técnica, em particular, constituem uma equipa jovem, dinâmica e qualificada, em quem está incutida a importância do espírito de equipa e da coordenação entre departamentos como forças motrizes para o sucesso da empresa. Assim, reconheço na equipa que integrei uma disponibilidade e acessibilidade ímpares, que permitiram a minha imediata inclusão na Direção Técnica e, conseqüentemente, a aquisição e consolidação dos conhecimentos técnicos e científicos, deixando sempre abertura para o esclarecimento de dúvidas que surgissem.

Assim, considero que a minha integração numa equipa inclusiva, profissional e dedicada foi indiscutivelmente um dos pontos fortes do estágio nos BASI, proporcionando a confiança mútua e autonomia necessárias ao desempenho das minhas funções e permitindo o meu crescimento enquanto profissional.

3.1.3 Diversidade de Tarefas Realizadas

A Direção Técnica tem uma ação muito abrangente nos BASI e, como tal, enquanto estagiário, tive a oportunidade de desempenhar e presenciar várias tarefas inerentes a este departamento. Esta diversidade revelou-se uma mais-valia no meu percurso, uma vez que me permitiu ter uma experiência multidisciplinar e estruturada das funções da Direção Técnica nos BASI, assim como compreender o fluxo de processos e a importância da coordenação entre os diferentes departamentos de uma Indústria Farmacêutica.

Assim, de acordo com o plano de estágio proposto, as principais atividades desenvolvidas e que tive a oportunidade de acompanhar incluíram a elaboração e revisão de *Quality/ Technical Agreements* (QTAs) para envio a fornecedores e clientes, gestão de farmacoteca e substâncias controladas, qualificação de colaboradores para acesso às áreas classificadas e monitorização de prática assética, revisão de documentação de lote, acompanhamento do processo de auditoria e gestão de desvios, reclamações e implementação de Ações Corretivas e Preventivas (CAPAs).

3.2 Pontos Fracos

3.2.1 Duração do estágio

Atendendo à natureza e complexidade do trabalho realizado na Direção Técnica, considero que três meses de estágio, para além de condicionarem a introdução a outras temáticas que constituem o objeto deste departamento, acabaram por se revelar insuficientes para adquirir a autonomia e a destreza necessárias ao pleno desempenho das tarefas propostas. Esta questão também foi evidente no caso da discussão dos QTAs, uma vez que exigia um fluxo comunicacional entre ambas as partes envolvidas e, geralmente, implicava elevados tempos de espera, quer para revisão interna dos documentos quer para a receção de respostas; tratam-se, portanto, de tarefas que exigem espaços temporais longos e as quais é necessário dar continuidade por longos períodos.

3.2.2 Sistemas Informáticos

De forma geral, as tarefas realizadas nos BASI exigiram o recurso a vários sistemas informáticos de gestão integrada, nomeadamente, o *Q-Pulse*[®], o *ERP Primavera*[®] e o *ORIMED*[®].

Tratando-se de *softwares* muito intuitivos e completos, estão na base do trabalho desenvolvido na organização e, por isso, foi necessário um período de adaptação inicial a estes sistemas que, de alguma forma, poderá ter condicionado o meu desempenho numa fase inicial do estágio.

Para além dos *softwares* mencionados anteriormente, houve ainda a necessidade de trabalhar com o *Microsoft® Excel* e *Microsoft® Teams*, que são ferramentas amplamente utilizadas na Indústria Farmacêutica e, dado o meu conhecimento insuficiente relativo às suas muitas funcionalidades e à sua aplicação em contexto laboral, acabou por se tornar um desafio compreender o seu funcionamento.

Não obstante, reitero a disponibilidade dos colaboradores que me acompanharam para o esclarecimento de dúvidas e considero que a utilização destes sistemas durante o estágio permitiu aprimorar as minhas competências que, a longo prazo, poderão constituir um fator diferenciador enquanto futuro profissional.

3.3 Oportunidades

3.3.1 Aplicação dos conhecimentos teóricos

Apesar de não constituir uma obrigatoriedade no plano curricular do MICE, considero que estágio em Indústria Farmacêutica constitui uma oportunidade única de aprendizagem que permite consolidar os conteúdos adquiridos num contexto maioritariamente teórico. Assim, tendo em consideração as tarefas desempenhadas nos BASI, destaco as unidades curriculares de Gestão e Garantia da Qualidade e Assuntos Regulamentares do Medicamento que indubitavelmente constituíram o suporte do trabalho desenvolvido e permitiram um enquadramento desses conhecimentos numa realidade profissional.

3.3.2 Inspeção do INFARMED

Durante o período de estágio, os BASI receberam uma inspeção do INFARMED – Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. com vista à renovação do Certificado de Boas Práticas de Fabrico. A inspeção teve como objetivo a verificação *in loco* da conformidade com as BPF e da garantia dos padrões de qualidade, segurança e eficácia exigidos. Por procedimento interno, estas inspeções são acompanhadas por representantes da Direção Técnica e do Sistema de Gestão da Qualidade (SGQ). Como tal, enquanto estagiário, esta constituiu uma oportunidade para compreender o âmbito e o planeamento destas fiscalizações.

3.3.3 Contacto com entidades do setor

O estágio em Indústria Farmacêutica e, mais concretamente, em Direção Técnica proporcionou um contacto recorrente com várias entidades do setor farmacêutico, quer nacionais, quer estrangeiras, com os quais os BASI estabelecem parcerias comerciais e institucionais, o que permitiu uma maior aproximação à realidade profissional.

Este contacto decorreu essencialmente no âmbito da discussão de QTAs e pedidos de esclarecimento, via *e-mail*, fomentando o desenvolvimento de apetências de comunicação adicionais em termos técnicos e profissionais que considero importantes enquanto futuro farmacêutico.

3.4 Ameaças

3.4.1 Estágio em Indústria Farmacêutica não creditado

O Artigo 44º, Secção 7, Capítulo III da Diretiva 2005/36/OE do Parlamento Europeu e do Conselho preconiza que o título de formação de farmacêutico pressupõe uma formação de, pelo menos, cinco anos, dos quais, no mínimo quatro anos de ensino teórico e prático, ministrado numa universidade, e seis meses de estágio em farmácia comunitária ou num hospital.

Como tal, por não constituir uma obrigatoriedade e exigir um número total de horas de estágio muito superior, o estágio em Indústria Farmacêutica acaba por não ser equacionado por alguns estudantes que ficam desta forma impedidos de contactar com esta realidade profissional durante o seu percurso académico. Assim, considero que poderia ser reconsiderada a creditação deste estágio, com vista a uma formação mais completa e abrangente, fomentando o interesse dos futuros farmacêuticos por esta área onde desempenhamos um papel fundamental.

4. Considerações Finais

Concluídos os três meses de estágio na Direção Técnica dos Laboratórios Basi, reconheço a pertinência que o estágio em Indústria Farmacêutica teve no meu percurso curricular para conhecer uma realidade profissional que até então desconhecia e que se revelou um contexto de aprendizagem muito desafiante, permitindo a consolidação dos conhecimentos prévios e a aquisição de novas competências, que certamente se revelarão diferenciadores no meu futuro profissional.

O Farmacêutico, enquanto especialista no domínio dos medicamentos, tem um papel fundamental na Indústria Farmacêutica, podendo intervir em várias etapas do processo de desenvolvimento de medicamentos. Assim, dada a abrangência do departamento que tive a oportunidade de integrar, considero que esta foi uma experiência muito enriquecedora e multidisciplinar que me permitiu familiarizar com a realidade de uma empresa farmacêutica e reconhecer a multiplicidade de saídas profissionais neste setor para um Mestre em Ciências Farmacêuticas.

5. Referências Bibliográficas

1. GRUPO FHC - **FHC Group «The Future of Health Care»** [Consult. 12 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.fhcthefutureofhealthcare.pt/pt/grupo-fhc>
2. LABORATÓRIOS BASI - INDÚSTRIA FARMACÊUTICA, S. A. - **Highlights** [Consult. 12 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.basi.pt/highlights/>

PARTE III

Monografia

Biomarcadores no diagnóstico, prognóstico e monitorização clínica de doenças neurodegenerativas

Lista de Abreviaturas

Aβ	Proteína β -amilóide
AGO	Proteína argonauta
AME	Atrofia Muscular Espinhal
APOE	Apolipoproteína E
APP	Proteína precursora amilóide
ASO	Oligonucleotídeo <i>antisense</i>
BEST Resource	Biomarkers, EndpointS and other Tools Resource
DA	Doença de Alzheimer
DH	Doença de Huntington
DP	Doença de Parkinson
EMA	European Medicines Agency
FDA	Food and Drug Administration
HTT	Huntingtina
LCR	Líquido cefalorraquidiano
mHHT	Huntingtina mutante
miRNA	microRNA
NfL	Neurofilament light protein
NIH	National Institutes of Health
polyQ	Elongamento de poliglutaminas
RISC	Complexo de silenciamento induzido por RNA
SMN	Survival Motor Neuron

Resumo

A prevalência das doenças neurodegenerativas acompanha a tendência de aumento da esperança média de vida e, como tal, estas patologias representam uma das principais causas de morbidade e mortalidade a nível mundial. Por constituírem uma classe de doenças tão heterogénea e para as quais ainda não existem estratégias terapêuticas capazes de modificar o curso clínico, existe uma necessidade premente de desenvolver ferramentas fiáveis e específicas de diagnóstico, prognóstico e monitorização clínica. Nesta perspetiva, a identificação de biomarcadores que abranjam as principais características das doenças neurodegenerativas (neurodegeneração, agregação proteica e neuroinflamação) constitui uma oportunidade para colmatar estas lacunas e alicerçar um ponto de viragem no diagnóstico precoce e tratamento destas doenças. Assim, a presente monografia procura sumariar o conhecimento fundamental relativo aos biomarcadores clinicamente relevantes no contexto de algumas das doenças neurodegenerativas mais comuns, com especial enfoque na doença de Alzheimer, atrofia muscular espinhal e doença de Huntington.

Palavras-chave: Doenças neurodegenerativas, Biomarcadores, Doença de Alzheimer, Atrofia Muscular Espinhal, Doença de Huntington.

Abstract

The prevalence of neurodegenerative diseases follows the trend of increasing life expectancy and, as such, these diseases represent one of the main causes of morbidity and mortality worldwide. Because they are such a heterogeneous class of diseases and for which there are still no therapeutic strategies capable of modifying the clinical course, there is a pressing need to develop reliable and specific tools for diagnosis, prognosis and clinical monitoring. In this perspective, the identification of biomarkers that cover the main characteristics of neurodegenerative diseases (neurodegeneration, protein aggregation and neuroinflammation) is an opportunity to close these gaps and to build a turning point in the early diagnosis and treatment of these diseases. Thus, this monograph seeks to summarize the fundamental knowledge regarding clinically relevant biomarkers in the context of some of the most common neurodegenerative diseases, with special focus on Alzheimer's disease, spinal muscular atrophy and Huntington's disease.

Keywords: Neurodegenerative diseases, Biomarkers, Alzheimer's disease, Spinal Muscular Atrophy, Huntington's disease

1. Introdução

Com o contínuo aumento da esperança média de vida, nos últimos anos temos assistido a um crescimento preocupante da proporção de pessoas idosas e um declínio progressivo da população jovem, ditando o envelhecimento global da população. De acordo as estatísticas divulgadas pelo Eurostat, em 2020, 20,6% da população europeia tinha 65 anos ou mais, tendo subido 3 pontos percentuais só na última década.¹ A nível mundial, a tendência é semelhante e, segundo as Nações Unidas, estima-se que o número de idosos, com 60 anos ou mais, duplique até 2050 e mais do que triplique até 2100, alcançando os 3,1 mil milhões de indivíduos.²

Dado que a idade avançada constitui um dos principais fatores de risco do desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, é expectável que a sua incidência e prevalência aumentem com o envelhecimento da população. Face ao exposto, estas patologias figuram como uma das principais causas de morbidade e mortalidade a nível mundial e, consequentemente, acarretam numerosas implicações em vários setores estruturais da sociedade, nomeadamente a saúde. Estima-se que as doenças neurodegenerativas afetaram cerca de 4.7 a 6.0 milhões de indivíduos nos EUA entre 2016 e 2017 e foram responsáveis por mais de 272 mil de mortes.³

A etiologia e os mecanismos fisiopatológicos das doenças neurodegenerativas ainda não se encontram devidamente esclarecidos, mas apesar de representarem uma classe de doenças clinicamente distintas, é possível identificar alguns *hallmarks* comuns, nomeadamente a neurodegeneração, a agregação proteica e a neuroinflamação, bem como sintomas transversais a todas elas como, por exemplo, declínio cognitivo, demência e distúrbios do movimento.⁴

De forma geral, as doenças neurodegenerativas são doenças progressivas e letais, uma vez que não existem estratégias terapêuticas capazes de modificar o seu curso clínico, e o seu diagnóstico, sendo baseado na avaliação dos sintomas sugestivos, apenas é feito numa fase tardia da doença quando a degeneração se encontra numa fase avançada e irreversível. Neste âmbito, a identificação de biomarcadores poderá constituir uma importante ferramenta para alterar o paradigma das doenças neurodegenerativas, permitindo determinar o diagnóstico precoce e o prognóstico dos indivíduos portadores destas patologias. Adicionalmente, também no campo dos ensaios clínicos e desenvolvimento de novos fármacos os biomarcadores poderão assumir um papel crucial, quer ao nível da estratificação dos participantes, quer ao nível da determinação de parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos.

2. Biomarcadores e doenças neurodegenerativas

2.1 Definição

Atualmente não existe uma definição de biomarcador que seja aceita como absoluta pela comunidade científica e, por isso, paralelamente à intensa investigação nesta área, tem-se assistido também a um esforço comum para harmonizar a terminologia.

De acordo com o *Food and Drug Administration (FDA)/National Institutes of Health (NIH) Biomarkers Definitions Working Group*, biomarcador é definido no glossário do *Biomarkers, Endpoints and other Tools (BEST) Resource* como uma entidade que é objetivamente quantificada e avaliada como um indicador de processos biológicos normais ou patológicos, mas também de respostas farmacológicas a determinada terapêutica. Assim, estes podem ser entidades moleculares, histológicas ou imagiológicas.⁵ Já segundo a *European Medicines Agency (EMA)*, um biomarcador é uma molécula biológica encontrada no sangue, outro fluido ou tecido que pode ser utilizada para monitorizar processos biológicos ou patológicos em humanos e animais.⁶

Os biomarcadores moleculares acabam por ser os mais comuns no âmbito das doenças neurodegenerativas, podendo ser detetados e quantificados nos fluidos biológicos, como o líquido cefalorraquidiano (LCR), o sangue, a urina e, mais recentemente, a saliva. Geralmente tratam-se de biomarcadores genéticos ou proteicos (proteínas estruturais, envolvidas em processos metabólicos ou enzimas), cuja concentração e atividade estão associados a características da patologia subjacente.

Assim, os biomarcadores têm um vasto leque de aplicações, nomeadamente no diagnóstico, prognóstico e avaliação da severidade de determinadas doenças, assim como na monitorização da resposta clínica a uma intervenção, permitindo orientar decisões clínicas e a individualização da terapêutica. Adicionalmente, os biomarcadores também representam uma importante ferramenta no campo da investigação e desenvolvimento de novos fármacos, permitindo definir os critérios de inclusão de participantes em ensaios clínicos e fornecendo dados relativos à exposição ao medicamento e variabilidade da resposta clínica, relação dose/resposta ou concentração/resposta, risco de reações adversas, mecanismo de ação e polimorfismos genéticos que tem impacto na farmacodinâmica e farmacocinética do fármaco.^{3,4}

2.2 Classificação de biomarcadores

Apesar da classificação de biomarcadores permanecer sobre alguma controvérsia e não existir nenhuma que seja reconhecida como oficial pela comunidade científica, o FDA/NIH *Biomarkers Definitions Working Group* propõe sete categorias distintas de biomarcadores⁵, cujas definições se encontram elencadas na **Tabela I**.

Tipo de biomarcador	Aplicação
Biomarcadores de diagnóstico	Confirmar a presença de determinada doença ou condição médica e identificar subtipos da doença.
Biomarcadores de monitorização	Avaliar o estadio de uma doença ou condição médica e monitorizar a resposta a uma intervenção terapêutica.
Biomarcadores farmacodinâmicos	Indicar a atividade biológica de um determinado medicamento ou agente ambiental.
Biomarcadores preditivos	Identificar os indivíduos que são mais prováveis de experimentar um efeito benéfico ou prejudicial na sequência da exposição a uma terapia ou agente ambiental.
Biomarcadores de prognóstico	Identificar a probabilidade de recorrência ou progressão da doença em indivíduos diagnosticados.
Biomarcadores de suscetibilidade/risco	Identificar o potencial para desenvolver uma doença ou condição médica em um indivíduo não diagnosticado.
Biomarcadores de segurança	Indicar a probabilidade, presença ou extensão de efeitos adversos após a exposição a uma terapia ou agente ambiental.

2.3 Características de um biomarcador ideal

As características listadas na **Tabela 2**, correspondem ao que seria um biomarcador ideal, segundo vários autores^{5,6}:

Elevada sensibilidade e especificidade (diagnóstico diferencial)
Resultados reprodutíveis, fiáveis e rápidos
Não invasivo
Quantificável por métodos simples, rápidos, custo-efetivos e padronizados
Representativo da progressão da doença
Validado em casos confirmados da doença
Detetável em fases mais precoces da doença (diagnóstico na fase pré-clínica)
Indicativo da resposta a uma intervenção terapêutica modificadora da doença

Atualmente são vários os potenciais biomarcadores das doenças neurodegenerativas com utilidade na prática clínica e na investigação, no entanto é improvável que cumpram individualmente todas as características de um biomarcador ideal. Por esse motivo, na prática clínica, recorre-se a uma combinação entre a avaliação neuropsicológica e a interpretação de biomarcadores para o diagnóstico.

Concluindo, um dos principais desafios que se impõe aos clínicos e investigadores é a possibilidade de desenvolver biomarcadores confiáveis que permitam o diagnóstico precoce das doenças neurodegenerativas e a deteção de disfunção neuronal numa fase pré-sintomática, e que facilitem também o desenvolvimento e monitorização de terapêuticas modificadoras do curso da doença.

2.4 A importância dos biomarcadores nas doenças neurodegenerativas

Geralmente, a primeira etapa na identificação e desenvolvimento de um biomarcador é compreender a fisiopatologia da doença. Contudo, as doenças neurodegenerativas correspondem a um espectro alargado de patologias com diversas apresentações clínicas e progressão heterogénea, que resultam da confluência de vários mecanismos fisiopatológicos complexos que incluem neurodegeneração, agregação proteica e inflamação. Recentemente, o desenvolvimento das tecnologias “ómicas” – genómica, transcriptómica, proteómica, metabolómica – tem contribuído largamente para a descoberta de potenciais biomarcadores, na medida em que, contrariamente à metodologia clássica, permitem a pesquisa de várias moléculas simultaneamente e a sua comparação com as amostras de controlo.¹¹

Como tal, apesar de se ter assistido a uma grande evolução nesta área, verifica-se uma carência de métodos sensíveis e eficientes para o diagnóstico precoce, prognóstico e monitorização da resposta terapêutica destas patologias.

2.4.1 Prática clínica

A maioria das doenças neurodegenerativas é assintomática durante longos períodos e, por isso, o diagnóstico acaba por ser tardio, quando os doentes já apresentam sintomas sugestivos e o processo de degeneração das células nervosas já se encontra avançado, determinando a falta de eficácia da maioria das terapêuticas. Por exemplo, no caso da Doença de Alzheimer (DA), a agregação e acumulação da proteína β -amilóide ($A\beta$) nos tecidos neuronais ocorre cerca de 10-30 anos antes do surgimento da demência¹² e, no caso da doença de Parkinson (DP), o aparecimento dos sintomas ocorre quando cerca de 60-80% das células

dopaminérgicas nigro-estriatais já morreram.¹³ Assim, o diagnóstico das doenças neurodegenerativas por meio de biomarcadores de diagnóstico capazes de detetar o início ou fases iniciais da doença, para além de permitir a monitorização da patologia a longo-prazo, representa uma oportunidade para iniciar e otimizar o tratamento numa fase pré-sintomática, por forma a retardar a progressão da doença.^{8,9}

No caso das doenças neurodegenerativas, o diagnóstico diferencial é também dificultado, o que poderá ser especialmente crítico no caso de ensaios clínicos que podem levar a resultados inconclusivos ou errados. Estudos que compararam o diagnóstico clínico com o diagnóstico na autópsia determinaram que cerca de 25-30% dos doentes com o diagnóstico clínico da DA foram erroneamente diagnosticados, verificando-se a mesma estatística para outras demências como, por exemplo, a demência frontotemporal, demência dos corpos de Lewis e demência vascular.

Em termos práticos, o correto diagnóstico das doenças neurodegenerativas permite reduzir os recursos e aumentar a probabilidade de sucesso do tratamento, para além de permitir a estratificação dos doentes de acordo com a resposta às diferentes terapias.

2.4.2 Ensaios clínicos e desenvolvimento de novos fármacos

A baixa precisão do diagnóstico clínico das doenças neurodegenerativas poderá ser colmatada com a inclusão de biomarcadores específicos no processo de triagem dos participantes, prevenindo a inclusão de indivíduos não elegíveis em ensaios clínicos de fármacos direcionados para uma determinada patologia. Por exemplo, estudos em doentes com demência leve na DA mostram que 25% dos pacientes que preenchem os critérios clínicos não apresentam patologia $A\beta$ ¹⁶ e, por isso, os estudos devem requerer a evidência da quantificação de biomarcadores como critério de inclusão. Esta questão acaba também por ter algum fundamento ético e económico, pois evita que indivíduos não elegíveis sejam sujeitos a ensaios clínicos que estão destinados a falhar.

A heterogeneidade apresentada pelas doenças neurodegenerativas é evidente e, como tal, certos subgrupos, potencialmente definidos por biomarcadores, podem responder melhor a certas terapias. Para além disso, ao direcionar as patologias a montante, como $A\beta$ na DA e α -sinucleína na DP, as terapias são provavelmente mais eficazes durante estágios precoces da doença, antes que a neurodegeneração irreversível ocorra.¹⁶

Tal como referido anteriormente, ambiciona-se o desenvolvimento de biomarcadores de diagnóstico que permitam a identificação da patologia antes dos sintomas incapacitantes e, conseqüentemente, facilitem o recrutamento de indivíduos adequados que são assintomáticos ou apresentam sintomatologia leves. Assim, através da monitorização clínica destes doentes, será possível determinar a relação entre os eventos a montante, e os eventos da jusante (neurodegeneração).¹⁶ Para tal, é importante definir biomarcadores de risco, que incluem, entre outros, estudos de genéticos, epigenéticos, de desenvolvimento e estilo de vida.

Adicionalmente, os biomarcadores poderão também ser úteis na compreensão dos mecanismos fisiopatológicos e etiológicos das doenças neurodegenerativas que estão na base do desenvolvimento de novas terapias, mas também na investigação de aspetos farmacodinâmicos.

2.4.3. Área regulamentar

As potenciais aplicações dos biomarcadores mencionadas anteriormente estendem-se também à área regulamentar, nomeadamente na aprovação de novos medicamentos pelas Autoridades Competentes, nomeadamente, a EMA e a FDA. Estes podem ser úteis para avaliar o mecanismo de ação do medicamento, determinar dados de eficácia e segurança e identificar grupos de doentes que podem beneficiar do tratamento através da estratificação dos participantes nos ensaios clínicos.¹⁷

Para que as Autoridades Competentes possam basear as suas decisões em dados recolhidos no âmbito da utilização de biomarcadores durante o processo de desenvolvimento de um medicamento, os mesmos têm de ser sujeitos a um processo de qualificação e validação. Assim, a validação corresponde ao processo de avaliação da precisão, exatidão, limite de deteção e robustez, e a qualificação fornece evidência de que o biomarcador está relacionado com determinado processo biológico ou *endpoint* clínico.¹⁷

Concluindo, o recurso a biomarcadores apresenta várias potencialidades no âmbito da aprovação de novos medicamentos eficazes e seguros, nomeadamente ao nível da sustentabilidade, contenção de custos e celeridade do processo.

2.4 Desafios no desenvolvimento de biomarcadores nas doenças neurodegenerativas

São vários os desafios que se impõe no desenvolvimento de biomarcadores para doenças neurodegenerativas, especialmente na fase de validação e qualificação dessas entidades.

Para além de ainda existirem algumas lacunas do que diz respeito ao conhecimento da sua fisiopatologia, as doenças neurodegenerativas são tipicamente heterogêneas em termos de apresentação clínica e progressão, partilhando fatores etiológicos, pelo que é improvável que apenas um biomarcador apresente sensibilidade e especificidade suficiente para cobrir todos os aspetos da doença. Adicionalmente, esta característica das doenças neurodegenerativas condiciona o sucesso dos ensaios clínicos ao nível da seleção da “população-alvo” e pode conduzir à interpretação inadequada e à determinação de relações impróprias entre a doença e o biomarcador, uma vez que os critérios para o diagnóstico clínico são subjetivos, especialmente nas fases iniciais da doença.¹⁸

Numa perspetiva analítica, a identificação de biomarcadores para doenças neurodegenerativas poderá também estar condicionada pela recolha, processamento e armazenamento das amostras biológicas. Embora existam protocolos padronizados para estes procedimentos para algumas destas doenças, ainda existe uma variabilidade considerável entre estudos, limitando a reprodutibilidade e a comparação direta com os resultados obtidos. Naturalmente, o LCR é o *golden standard* no que diz respeito à amostra para análise de biomarcadores nas doenças neurodegenerativas, apresentando resultados promissores e reprodutíveis, contudo a sua colheita requer a utilização de metodologias dispendiosas e invasivas que podem condicionar o desenvolvimento dos estudos nesta área.¹⁹

Por fim, o panorama regulamentar complexo e a sua constante evolução poderão ser também considerados um desafio ao desenvolvimento de novos biomarcadores.

3. Doenças Neurodegenerativas

3.1 Doença de Alzheimer

3.1.1 Epidemiologia

A DA é a doença neurodegenerativa mais prevalente, e representa a principal causa de demência, estando na gênese de aproximadamente 60-70% dos casos diagnosticados.¹⁶ Entre 1990 e 2016, a prevalência global desta patologia cresceu cerca de 117%, de 20.2 milhões em 1990 para 43.8 milhões de em 2016²⁰ e a tendência é para aumentar, tendo em conta o envelhecimento populacional. Geralmente, a doença afeta indivíduos com idades superiores a 60 anos, sendo que a taxa de incidência cresce abruptamente de 0,5%/ano entre os 65 e os 75 anos, para 6-8%/ano para idades superiores a 85 anos.²¹

Segundo a projeção da Alzheimer's Association, em 2022 prevê-se que o custo da prestação de cuidados a pessoas com DA nos Estados Unidos da América atingirá os US\$ 321 milhão de milhões.²² Considerando que se trata de uma tendência global, devem ser definidas estratégias para contrariar esta conjuntura. Assim, no relatório apresentado pela Alzheimer's Association este ano, as principais estratégias para a contenção de custos de saúde associados à doença seriam o diagnóstico precoce e o desenvolvimento de terapias capazes de prevenir e/ou curar a doença²², nas quais os biomarcadores podem assumir um papel preponderante.

3.1.2 Caracterização clínica e fisiopatologia

A DA é uma doença neurodegenerativa que se caracteriza pela acumulação de placas de A β no espaço extracelular e agregação da proteína tau hiperfosforilada em tranças neurofibrilares intracelulares.¹⁶

Os peptídeos A β são monómeros, com cerca de 37 a 43 aminoácidos, que resultam da clivagem amiloidogénica da proteína precursora amiloide (APP) por β -secretases e γ -secretases, sendo secretados no espaço extracelular após a sua formação.²³ Apesar de distintas entre elas, as isoformas A β_{40} e A β_{42} são as isoformas mais comuns deste peptídeo. A A β_{42} , em comparação com a A β_{40} , apresenta uma maior tendência para formar agregados insolúveis, dando origem às placas de A β características da doença. Segundo a hipótese da cascata amiloide, esta acumulação tem um papel iniciador na doença e precede a agregação da proteína tau e, conseqüentemente, a neurodegeneração.^{1,6}

A DA apresenta uma forte componente genética. Mutações no gene da APP, localizado no cromossoma 21q21, estão relacionadas com o *early-onset* da Doença de Alzheimer (EOAD), uma vez que podem interferir na clivagem da APP e, assim, conduzir à agregação de A β . Para além disso, a doença está também associada a mutações que envolvem os genes da PSEN1 e PSNE2, localizados no cromossoma 14q24.3 e 1q31-q42, respetivamente, que codificam as γ -secretases responsáveis pela clivagem da APP pela via amiloidogénica, levando ao aumento dos níveis de A β .

No caso do *late-onset* da DA (LOAD), este está relacionado com a presença de alelos do gene da apolipoproteína E (APOE), localizado no cromossoma 19q13.2.¹⁴ As três isoformas mais comum da APOE são APOE ϵ 2, APOE ϵ 3 e APOE ϵ 4, contudo é a isoforma APOE ϵ 4 que está associada ao risco de desenvolvimento de LOAD. Esta proteína tem a capacidade de modular a clearance e deposição da A β , podendo ser considerada um biomarcador de risco/susceptibilidade.²³

A proteína tau é uma proteína responsável pela estabilização dos microtúbulos, estando localizada essencialmente nos axónios das células nervosas do SNC.¹⁶ Devido a fenómenos de *splicing* alternativo, existem 6 isoformas desta proteína. Na DA, as principais isoformas envolvidas são a 3R e a 4R. Estas sofrem modificações pós-tradução, incluindo hiperfosforilação, que promovem a agregação e a deposição sobre a forma de tranças neurofibrilares no interior das células.²³

Apesar do mecanismo subjacente à doença não estar claramente identificado, modelos atuais da doença indicam que a fisiopatologia é iniciada pela acumulação de A β , progredindo para a agregação da proteína tau no córtex cerebral, neurodegeneração e, conseqüentemente, declínio cognitivo, sugerindo o efeito sinérgico destas duas moléculas.²⁴

A primeira manifestação clínica da DA é a demência, que está associada a um declínio da função cognitiva, alterações no comportamento, perda de memória, desorientação e afasia.²¹ Assim, inicialmente, a DA apenas era diagnosticada no estadio de demência. Contudo, com o advento dos biomarcadores, o diagnóstico e classificação dos doentes no espectro do Alzheimer podem vir a basear-se numa abordagem tripartida (*ATN approach*) que avalia também a presença de A β , tau hiperfosforilada e sinais clínicos de neurodegeneração.^{8,9}

3.1.3 Biomarcadores na Doença de Alzheimer

Pelo exposto anteriormente, os estudos têm demonstrado consistentemente que os níveis de $A\beta_{42}$, tau total (T-tau) e tau fosforilada na treonina 181 (P-tau181) no LCR permitem distinguir entre indivíduos com DA e controles saudáveis e, por isso, esses biomarcadores são uma componente fundamental do diagnóstico da doença²⁷, estando evidenciados nas *guidelines* internacionais da especialidade e sendo vastamente aplicados na prática clínica nos países europeus e nos EUA.²³ Nos últimos anos tem-se assistido a uma extensiva colaboração global para desenvolver métodos de referência e padronizados para a colheita do LCR e análise da amostra que são constantemente monitorizados por um programa de qualidade que avalia a consistência da análises dos resultados.²⁵

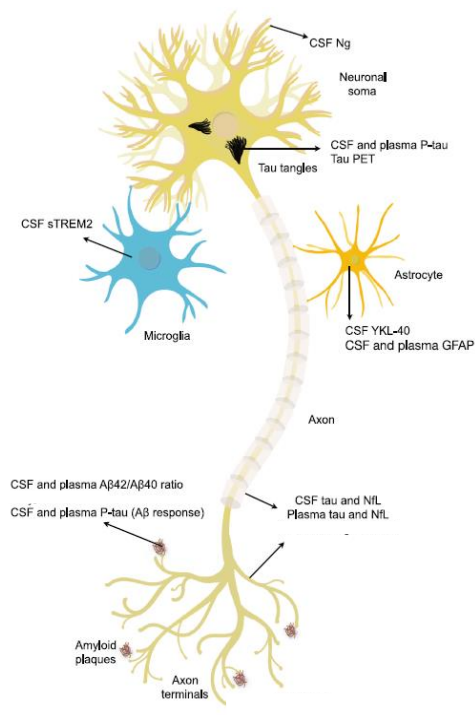


Figura I – Representação gráfica da origem dos biomarcadores na Doença de Alzheimer. (Adaptado de ZETTERBERG, H; BENDLIN, B. (2020)²⁴

Nos doentes com Alzheimer, devido à sua agregação no parênquima cerebral, a concentração de $A\beta_{42}$ no LCR está reduzida em cerca de 50%. Contudo, o rácio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ aumentado tem demonstrado maior precisão e fiabilidade no âmbito do diagnóstico da DA, uma vez que não é afetado pelas variações interindividuais ao nível processamento da APP de onde resultam estas duas moléculas, da produção e clearance do LCR e do processamento da amostra que afetas ambas as isoformas.^{10,11,12}

Atualmente, o LCR ainda é a matriz *standard* para determinar a concentração dos peptídeos $A\beta$, contudo o processo de colheita (punção lombar) é invasivo e não está amplamente disponível em todos os países.¹⁶ Como tal, tem-se verificado um especial interesse no desenvolvimento de métodos para a determinação destes biomarcadores no plasma, especialmente através de técnicas de espectrometria de massa e ensaios imunológicos. Não obstante, ainda não foi possível estabelecer uma associação entre os níveis plasmáticos e os níveis do LCR, uma vez que os níveis de $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ plasmático estão reduzidos em apenas cerca de 10-20%, para além da sensibilidade e especificidade muito inferior que os métodos apresentam.^{1,11,13}

Deste modo, a $A\beta_{42}$ e, mais recentemente, o ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ são reconhecidos como biomarcadores centrais para o diagnóstico precoce e prognóstico na DA, para além de estar aprovado pela FDA para integrar ensaios clínicos de novos fármacos, quer na seleção de indivíduos elegíveis para participar no estudo, quer para monitorizar a resposta à terapêutica.³⁰

Enquanto a deposição de placas senis de $A\beta$ tem início vários anos antes do início dos sintomas, existe uma concomitância entre o aumento dos níveis de tau e a progressão da doença, estando profundamente correlacionados com o processo de degeneração e declínio cognitivo.^{1,14}

A T-tau é considerada um biomarcador geral da neurodegeneração, mas em contrapartida a P-tau181 é um importante biomarcador no diagnóstico diferencial, apresentando especificidade para DA, que se reflete nos seus níveis marcadamente aumentados nesta patologia em comparação com outras doenças neurodegenerativas.³⁰ A explicação mais plausível para este fenómeno remete para uma resposta das células nervosas à exposição à $A\beta$, aumentando o nível de fosforilação da tau e a sua secreção.²⁸ Como tal, em conjunto com a $A\beta$, constituem um valioso biomarcador para o diagnóstico diferencial da AD e para prever o declínio cognitivo dos doentes.³² Recentemente foi proposto que a tau fosforilada na treonina 271 (P-tau217) apresenta uma sensibilidade superior quando comparada com a P-tau181, estando correlacionada com a carga de tranças neurofibrilares e a gravidade da doença, permitindo uma distinção entre a demência associada à AD e outras demências; no entanto, esta ainda não está difundida na prática clínica.^{1,5}

De forma semelhante à $A\beta$, a amostra de eleição para a determinação da proteína tau é o LCR que, apresentando as desvantagens mencionadas anteriormente, tem motivado o desenvolvimento de métodos baseados na sua determinação no plasma. Neste sentido, é necessário ter em conta a degradação proteolítica sofrida por esta proteína, determinando o curto tempo de semi-vida no sangue (10h) quando comparado com o LCR (cerca de 20 dias).³³ Contudo, neste caso, os resultados têm sido mais promissores do que no caso da $A\beta$. Vários estudos coorte têm revelado coerência entre os níveis plasmáticos e os níveis no LCR deste biomarcador. Para além disso, ainda têm demonstrado ser possível obter um diagnóstico diferencial com grande precisão entre a demência e outras alterações neuropatológicas associadas à DA e outras doenças neurodegenerativas através da determinação da P-tau plasmática.^{1,13}

Além das placas de A β e os emaranhados neurofibrilares constituídos pela proteína tau que representam os principais *hallmarks* DA, existem outras características patológicas que podem ser identificadas no cérebro dos doentes, nomeadamente neurodegeneração, disfunção sináptica e neuroinflamação³⁰, constituindo uma oportunidade para o desenvolvimento de novos biomarcadores para auxiliar no diagnóstico, prognóstico e monitorização clínica da DA. De acordo com o *site* clinicaltrials.gov, neste momento encontram-se ativos cerca de 280 ensaios clínicos que envolvem biomarcadores candidatos para esta patologia. Na **Tabela 3**, encontram-se sumariados alguns dos candidatos mais promissores e a sua relação com os respetivos *hallmarks* da doença.

Tabela 3. Biomarcadores candidatos para a Doença de Alzheimer				
Biomarcador	Amostra	Alteração na DA	Função/Aplicação	Ref.
Neurodegeneração				
NfL	– LCR – Plasma	↑	– Proteína que constitui o citoesqueleto do axónio. – Biomarcador de diagnóstico (baixa especificidade).	34; 35
Disfunção sináptica				
Neurogranina	– LCR	↑	– Proteína pós-sináptica envolvida na plasticidade sináptica. – Biomarcador de diagnóstico (elevada especificidade).	36
Neuroinflamação/ Ativação da microglia				
YKL-40	– LCR	↑	– Glicoproteína envolvida na ativação das células da microglia e astrócitos. – Biomarcador de monitorização clínica.	30
sTREM-2	– LCR	↑	– Recetor transmembranar envolvido na regulação da resposta da microglia, formação de placas de A β e plasticidade sináptica. – Biomarcador de diagnóstico. – Biomarcador de monitorização clínica.	30
GFAP	– LCR – Plasma	↑	– Proteína envolvida na ativação de astrócitos. – Biomarcador de monitorização clínica (baixa especificidade).	28; 37; 38

Abreviaturas: ↑ (níveis aumentados); NfL (Neurofilament light protein); YKL-40 (Chitinase-3-like protein 1); sTREM-2 (Triggering receptor expressed on myeloid cells 2); GFAP (Glial fibrillary acidic protein).

3.2 Atrofia Muscular Espinhal

3.2.1 Epidemiologia

Considerada uma doença rara, a atrofia muscular espinhal (AME) é uma das doenças autossómicas recessivas hereditárias mais comuns e a principal causa de mortalidade infantil por doença monogénica, afetando 1 em cada 11000 nados-vivos.³⁹ Enquanto doença

neuromuscular, os sintomas sugestivos da doença são a fraqueza muscular e a atrofia que resultam da perda progressiva e irreversível de neurónios da medula espinhal e do tronco cerebral, afetando geralmente os sistemas respiratório, osteoarticular e gastrointestinal.⁴⁰ De acordo com a idade do início dos sintomas e grau de disfunção motora, o espectro clínico da AME divide-se em 5 fenótipos, com grau crescente de gravidade, desde o subtipo 0 até ao subtipo IV⁴¹, sendo que o subtipo mais comum é o subtipo I, afetando cerca de 60% dos indivíduos. Dada a sua gravidade, os doentes acabam por ter uma esperança média de vida reduzida, contribuindo para a baixa prevalência quando comparada com outros subtipos.⁴²

Durante os últimos anos foram feitos avanços significativos no que diz respeito ao tratamento da AME, resultando na aprovação de 3 fármacos pela Autoridade do medicamento dos EUA³⁹. Assim, o contínuo desenvolvimento de biomarcadores validados para monitorizar a progressão da doença e a resposta à terapêutica poderá contribuir para uma utilização informada e custo-efetiva destes tratamentos inovadores e tendenciosamente muito dispendiosos⁴³ como, por exemplo, o Zolgensma[®] (onasemnogene abeparvovec) que é considerado o medicamento mais caro do mundo, custando cerca de \$2.1 milhões nos EUA.

44

3.2.2 Caracterização clínica e fisiopatologia

Na maioria dos casos, a AME é causada pela deleção homozigótica ou mutação dos exões 7 e 8 no gene do SMN1 (*survival motor neuron 1*), localizado no cromossoma 5q13.2⁴², levando à formação de uma proteína truncada e não funcional. No mesmo cromossoma, existe o gene SMN2 (*survival motor neuron 2*), que é muitas vezes referido como *backup* do gene SMN1⁴⁵, diferindo apenas por 1 único nucleótido que, apesar de não alterar a sequência de aminoácidos, resulta no *splicing* alternativo do exão 7 na maioria dos casos (85%), levando à síntese de quantidades consideráveis de proteína truncada; contudo, em 15% dos casos, o *splicing* alternativo permite a inclusão do exão 7, levando à formação da proteína funcional.⁴⁶ Deste modo, o número de cópias do gene SMN2 varia inversamente com a gravidade da doença e é considerado um biomarcador de prognóstico, uma vez que quanto maior o número de cópias do gene, maior será a quantidade de proteína funcional sintetizada.^{17,20}

Em termos de diagnóstico, este baseia-se essencialmente em técnicas de genética molecular que procuram identificar a deleção homozigótica ou mutação do gene SMN1 em doentes com sintomas típicos da doença. Em simultâneo é também determinado o número de cópias do gene SMN2 para fazer a avaliação da severidade da doença.⁴⁵ A sintomatologia

sugestiva da AME inclui contraturas articulares, fraqueza distal, paralisia diafragmática como insuficiência respiratória e disfunção cerebelar.⁴⁶

Como sumariado na **Tabela 4.**, o espectro clínico da AME encontra-se dividido em 5 fenótipos, que se distinguem pela idade de início dos sintomas e pelo nível de função motora atingido.^{18,25,26}

Tabela 4. Classificação clínica da AME

Fenótipo	Início dos sintomas	Função motora atingida	Esperança média de vida
0	Pré-natal	Necessidade de suporte respiratório à nascença	Fatal à nascença sem suporte respiratório
I	<6 meses	Capacidade de sentar com suporte	<2 anos (falência respiratória)
II	6-18 meses	Capacidade de sentar sem suporte	Idade adulta
III	>18 meses	Capacidade de andar independentemente	Normal
IV	>10 anos	Capacidade de andar independentemente	Normal

3.2.3 Biomarcadores da Atrofia Muscular Espinhal

No caso da AME ainda não existem biomarcadores validados, apesar de existirem vários sob investigação. Paralelamente à proteína SMN, que é considerada o biomarcador de eleição para AME, os biomarcadores que apresentam resultados mais promissores atualmente são os neurofilamentos (NFs), os microRNAs específicos do músculo (myomiRs), a creatinina e o perfil proteómico do LCR.

O mecanismo de ação subjacentes às terapias aprovadas para a AME têm como efeito terapêutico a restituição da expressão da SMN, pelo que esta constitui o principal biomarcador da doença.⁴¹ Apesar de poder elucidar sobre o estadió da doença, os níveis desta proteína não variam ao longo do tempo e, por isso, não permitem a monitorização da doença e a resposta ao tratamento.³⁹

Os NFs são constituintes dos axónios das células nervosas e, na presença de dano neuronal associado a doenças neurodegenerativas, são libertados nos fluídos extracelulares, nomeadamente o LCR e sangue periférico. Dada a elevação destas proteínas em outras doenças neurodegenerativas, recentemente têm-se considerado os NFs como potenciais biomarcadores na AME, especialmente entre os doentes tratados com nusinersen (Spinraza[®]), que é um olinucleotídeo *antisense* (ASO) que promove o *splicing* alternativo do gene SMN2

para incluir o exão 7 e aumentar os níveis da proteína SMN⁴⁹, permitindo avaliar a severidade da doença e a resposta à intervenção terapêutica. Contudo, têm-se verificado resultados contraditórios nos níveis da proteína quantificados em indivíduos de faixas etárias diferentes e entre subtipos diferentes.^{17,19}

Ao nível dos neurónios motores, os microRNAs (miRNAs) desempenham um papel fundamental no desenvolvimento e diferenciação celular, no crescimento axonal, na estrutura do citoesqueleto e na formação de sinapses.⁵⁰ Por esse motivo, a correlação entre o padrão de expressão de miRNAs e a patogénese da AME tem sido extensivamente estudada, sugerindo que estas pequenas moléculas atuam como modeladores da doença, podendo ser consideradas potenciais alvos terapêuticos, mas também biomarcadores para monitorização da doença e da resposta ao tratamento.⁵¹

Os miRNAs são moléculas de RNA não codificante de cadeia simples constituídos por cerca de 22-25 nucleótidos que regulam a expressão génica a um nível pós-transcricional. Após a sua expressão e biogénese, o miRNA associa-se às proteínas Argonautas (AGO) e posteriormente é transferido para o complexo de silenciamento induzido por RNA (RISC). Este complexo reconhece a região 3' não traduzida (3'-UTR) do RNA mensageiro (mRNA) alvo e liga-se por complementaridade de bases, levando à regulação negativa da sua expressão, quer por degradação quer por inibição da tradução.⁵²

À luz da evidência atual, existe um conjunto de miRNAs que constituem potenciais candidatos a biomarcadores da AME, dos quais se destacam os seguintes: miR-9, miR-132, miR-206, miR-183 e miR-375.^{28,29,30,31} Estas moléculas, para além de facilmente detetáveis em amostras biológicas, como o sangue e o LCR, apresentam a vantagem de serem altamente estáveis e passíveis de serem preservadas.¹⁴

Tratando-se de uma doença que afeta o sistema neuromuscular, verifica-se uma denervação progressiva na AME que, em simultâneo com a redução das cópias de SMN, leva a alterações no metabolismo do músculo esquelético que acompanham a progressão da doença.⁴¹ Neste âmbito, a creatina cinase é uma enzima fundamental para a homeostase energética do músculo esquelético, sendo responsável pela fosforilação da creatina a creatina fosfato, que constitui a principal reserva mobilizável de energética do músculo esquelético. A creatinina, por sua vez, constitui um produto da degradação desta última e, por isso, é um biomarcador da massa muscular.^{17,19} Um estudo longitudinal, realizado por Alves *et al.* que envolveu 238 doentes com AME, permitiu concluir que a creatinina sérica se encontra

consideravelmente diminuída nestes indivíduos, indicando a progressão e severidade da doença.⁵⁵ De forma semelhante, através de um ensaio clínico retrospectivo multicêntrico que incluiu 206 doentes com AME, Freigang *et al.* concluiu que a atividade da creatina cinase se encontra aumentada e a concentração de creatinina sérica se encontra diminuída, refletindo a gravidade da doença e constituindo potenciais biomarcadores de prognóstico e monitorização clínica de doentes tratados com nusinersen.⁵⁶ Como tal, recomenda-se a quantificação desta molécula nas análises de rotina destes doentes que, para além de um potencial biomarcador da AME, recorre a técnicas não invasivas e pouco dispendiosas.

Com o advento de novas terapias para esta patologia, a variabilidade na resposta ao tratamento entre portadores da doença continua a constituir um desafio para os investigadores. Desta forma, o desenvolvimento de biomarcadores neste âmbito deve constituir uma prioridade para facilitar a estratificação dos doentes com AME com fenótipos heterogéneos, aprimorar a estatística de avaliação de ensaios clínicos e evitar que os doentes sejam sujeitos a tratamentos potencialmente caros, cujos efeitos da exposição a longo prazo ainda não foram totalmente esclarecidos.^{28,33}

3.3 Doença de Huntington

3.3.1 Epidemiologia

A doença de Huntington (DH) é uma doença rara, contudo é a mais comum das doenças monogénicas autossómicas dominantes. Na população europeia, esta patologia afeta aproximadamente 12 pessoas por cada 100 000 habitantes, sendo menos prevalente nos continentes Africano e Asiático. Em termos de incidência, estima-se que surjam anualmente entre 4.7 e 6.9 novos casos da doença por milhão de habitantes na população ocidental.⁵⁸

Apesar de existirem casos reportados em crianças e idosos, geralmente os sintomas sugestivos da doença surgem durante a meia-idade (~45 anos), tendendo inevitavelmente para a sua progressão e agravamento e culminando com a morte.⁵⁹ Embora exista uma correlação entre o número de repetições CAG e a idade do início dos sintomas, este não pode ser considerado para a previsão da gravidade da doença, constituindo um desafio para o tratamento da doença.⁵⁷

3.3.2 Caracterização clínica e fisiopatologia

A DH é causada pela repetição anormal do trinucleótido CAG (≥ 36 repetições), perto do início do exão I do gene da huntingtina (HTT), que se encontra no braço curto do cromossoma 4, levando à tradução de uma proteína mutante com a presença de um alongamento de poliglutaminas (polyQ) localizado no terminal-N.⁶⁰ Inclusões desta proteína mutante são frequentemente encontrados no citoplasma das células nervosas, sendo responsáveis pela agregação proteica, desregulação transcricional, excitotoxicidade e comprometimento do transporte axonal e transmissão sináptica, especialmente ao nível dos neurónios espinhais médios do estriado; este será o mecanismo mais plausível para neurodegeneração que caracteriza a doença.^{31,33,35}

O diagnóstico da DH baseia-se na avaliação clínica, no histórico familiar e, mais frequentemente, em testes genéticos que detetam a presença da expansão CAG no gene da HTT. A sintomatologia sugestiva da doença caracteriza-se por uma disfunção motora (mais tipicamente coreia, que se caracteriza por movimentos involuntários, breves e abruptos resultantes de contrações musculares aleatórias contínuas), declínio cognitivo e transtorno neuropsiquiátrico.^{58,61}

3.3.3 Biomarcadores na Doença de Huntington

De uma forma transversal, os biomarcadores nas doenças neurodegenerativas permitem obter informação fundamental relativa ao diagnóstico, prognóstico e farmacodinâmica. Na DH, em específico, ainda não existe nenhum biomarcador com aprovação regulamentar, por isso, atualmente os esforços centram-se no desenvolvimento e investigação de biomarcadores com potencial para serem utilizados na prática clínica e no desenvolvimento de novos tratamentos.^{31,36} Biomarcadores como a mHTT e o NfL têm constituído uma valiosa ferramenta no que diz respeito à avaliação da progressão da doença e à interpretação do efeito de terapias que pretendem diminuir os níveis de mHTT.^{32,37}

Na DH, a neurodegeneração leva à libertação da mHTT pelas células nervosas afetadas, podendo ser quantificada em amostras do LCR dos portadores desta doença, estando inclusivamente validada a sua utilização em ensaios clínicos. Neste caso, a sua concentração relaciona-se diretamente com o estadió da doença e a sua severidade.⁵⁹ Para além disso, o desenvolvimento de estratégias terapêuticas para a DH centra-se essencialmente na redução dos níveis de mHTT, o que evidencia a importância deste biomarcador na avaliação da eficácia

de novos fármacos.⁶³ Esta proteína foi inclusivamente utilizada como biomarcador farmacodinâmico num ensaio clínico que pretendia demonstrar a diminuição dose-dependente da mHTT em indivíduos com DH tratados com ASO.⁶⁴

No entanto, este biomarcador apresenta uma desvantagem, na medida em que a fração solúvel de mHTT está presente em muito baixa concentração no LCR e no plasma e como é produzida ubiquamente, torna-se difícil perceber a sua proveniência e a sua ligação ao fenómeno fisiopatológico.⁶² Por esse motivo, impõe-se a necessidade de desenvolver ensaios ainda mais sensíveis para a sua deteção, como o proposto no estudo.⁶⁵

O Neurofilament light protein (NfL) e a proteína tau são componentes específicos do citoesqueleto das células nervosas. Como tal, assim como acontece com a mHTT, os seus níveis encontram-se aumentados na DH, estando diretamente relacionados com a neurodegeneração no SNC.^{36,39,59}

Os estudos indicam que é possível estabelecer uma associação entre as concentrações do NfL no LCR e no plasma de indivíduos portadores da doença, estando ambas aumentadas em comparação com os controlos saudáveis. Os níveis elevados deste biomarcador são, por isso, indicativos da severidade da doença e da progressiva atrofia cerebral. Para além disso, o NfL poderá ter também aplicação enquanto biomarcador preditivo, uma vez que permite prever o início das manifestações clínicas até 3 anos e a taxa de progressão da doença ao nível das funções cognitivas e atrofia cerebral em indivíduos portadores da mutação.^{32,40} Contudo, tratando-se de um biomarcador que é transversal a muitas outras doenças neurodegenerativas, apresenta baixa especificidade para o diagnóstico da DH.⁶⁷

A concentração da proteína tau surge consideravelmente aumentada no LCR dos portadores da doença, quando comparado com indivíduos saudáveis, para além de que foi observada a presença de agregados desta proteína em amostras *pos-mortem* de tecido cerebral de indivíduos com DH. Estas evidências indicam a existência de fenómenos de fosforilação e *splicing* alternativo da proteína tau no estriado destes indivíduos.

A ativação da microglia e a neuroinflamação acabam por constituir um mecanismo importante da fisiopatologia da DH e, como tal, os níveis de diversos mediadores pró-inflamatórios encontram-se aumentados no LCR de indivíduos portadores da doença quando comparados com controlos saudáveis. Atualmente, os resultados mais promissores neste âmbito estão relacionados com citosina IL-6 e a YKL40 (que, para além de constituírem

potenciais biomarcadores de diagnóstico e progressão da doença, também permitem o estudo de vias fisiopatológicas relevantes da doença.^{44,51}

Os resultados obtidos em estudos levados a cabo em linhas celulares, modelos animais e, mais importante ainda, amostras biológicas humanas corroboram a alteração do padrão de expressão de miRNAs na DH. Como mencionado anteriormente, trata-se de moléculas de RNA não codificante que são responsáveis pela regulação pós-transcricional da expressão de genes.^{39,43} No caso concreto da DH, é possível estabelecer uma relação entre o padrão de desregulação de determinados miRNA e os mecanismos moleculares característicos da doença, uma vez que estas moléculas estão envolvidas em diversos mecanismos moleculares: desenvolvimento, diferenciação e sobrevivência neuronal, agregação da proteína mHTT, função sináptica e apoptose celular.⁶⁸ Atualmente, os miRNAs com resultados mais promissores enquanto potenciais biomarcadores de diagnóstico para a DH são os seguintes: miR-9*, miR-34b, miR-10b-5p, miR-486-5p, miR-128a, miR-122-5p, miR-520f-3p, miR-135b-3p, miR-4317, miR-3928-5p, miR-8082, miR-140-5p.^{39,43,44,45}

Tratando-se de uma área ainda em desenvolvimento, ainda não existem métodos padrão e amplamente difundidos para as técnicas de amostragem e para as técnicas analíticas que, em concomitância com o reduzido número de participantes nos ensaios clínicos, dá origem a uma variabilidade substancial entre estudos, o que torna a comparação dos resultados extremamente complexa e inadequada.⁶⁴

4. Conclusão

De uma forma geral, o panorama epidemiológico das doenças neurodegenerativas, aliado à dificuldade do diagnóstico e a inexistência de estratégias terapêuticas capazes de alterar o curso clínico da doença determinam a necessidade urgente de identificar biomarcadores para estas patologias. Apesar da investigação neste campo ter assistido a um franco desenvolvimento nos últimos anos e terem sido identificados inúmeros potenciais biomarcadores, para a maioria das doenças neurodegenerativas continuam a não existir biomarcadores validados, passíveis de serem difundidos na prática clínica. Para além de outros fatores envolvidos, esta realidade deve-se em parte à variabilidade entre estudos, uma vez que não existem técnicas e procedimentos devidamente padronizados que permitam a comparação de resultados entre estudos, assim como a dificuldade na estratificação dos doentes a integrar os ensaios clínicos.

Contudo, verifica-se uma tendencial atual para o recurso cada vez mais frequente aos biomarcadores, quer no diagnóstico, prognóstico e monitorização clínica das doenças neurodegenerativas, quer na triagem dos participantes dos ensaios clínicos. O exemplo mais evidente desse cenário é a DA, que já possui dois biomarcadores devidamente aprovados, nomeadamente, a proteína $A\beta_{42}$ e a proteína tau. Os casos da AME e da DH são semelhantes entre si, uma vez que apesar de não existirem biomarcadores devidamente validados, a investigação tem evoluído positivamente nesse sentido, permitindo inclusive a sua utilização em ensaios clínicos para o desenvolvimento de novos fármacos.

- Neurology**. ISSN 14744422. 12:4 (2013) 357–367. doi: 10.1016/S1474-4422(13)70044-9.
13. BURKE, William J. - The progression of Parkinson disease: A hypothesis. **Neurology**. ISSN 00283878. 69:7 (2007) 710–711. doi: 10.1212/01.wnl.0000285430.23876.c5.
14. DOROSZKIEWICZ, Julia; GROBLEWSKA, Magdalena; MROCZKO, Barbara - Molecular Biomarkers and Their Implications for the Early Diagnosis of Selected Neurodegenerative Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 14220067. 23:9 (2022). doi: 10.3390/ijms23094610.
15. HANSSON, Oskar - Biomarkers for neurodegenerative diseases. **Nature Medicine**. ISSN 1546170X. 27:6 (2021) 954–963. doi: 10.1038/s41591-021-01382-x.
16. HANSSON, Oskar - Biomarkers for neurodegenerative diseases. **Nature Medicine**. ISSN 1546170X. 27:6 (2021) 954–963. doi: 10.1038/s41591-021-01382-x.
17. GROMOVA, Mariya *et al.* - Biomarkers: Opportunities and Challenges for Drug Development in the Current Regulatory Landscape. **Biomarker Insights**. ISSN 11772719. 15:2020). doi: 10.1177/1177271920974652.
18. CONSTANTINESCU, Radu; MONDELLO, Stefania - Cerebrospinal fluid biomarker candidates for Parkinsonian disorders. **Frontiers in Neurology**. ISSN 16642295. 3 JAN:2013). doi: 10.3389/fneur.2012.00187.
19. FAGAN, Anne M.; PERRIN, Richard J. - Upcoming candidate cerebrospinal fluid biomarkers of Alzheimer’s disease. **Biomarkers in medicine**. ISSN 1752-0371 (Electronic). 6:4 (2012) 455–476. doi: 10.2217/bmm.12.42.
20. NICHOLS, Emma *et al.* - Global, regional, and national burden of Alzheimer’s disease and other dementias, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **The Lancet Neurology**. ISSN 14744465. 18:1 (2019) 88–106. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30403-4.
21. RAGHAVAN, Aparna; SHAH, Zahoor A. - Neurodegenerative disease. **Diet, Exercise, and Chronic Disease: The Biological Basis of Prevention**. 2014) 339–390. doi: 10.1201/b16783.
22. ALZHEIMER’S ASSOCIATION - 2022 Alzheimer’s disease facts and figures. **Alzheimer’s and Dementia**. ISSN 15525279. 18:4 (2022) 700–789. doi: 10.1002/alz.12638.
23. KNOPMAN, David S. *et al.* - Alzheimer disease. **Nature Reviews Disease Primers**. ISSN 2056676X. 7:1 (2021) 1–21. doi: 10.1038/s41572-021-00269-y.

24. BUSCHE, Marc Aurel; HYMAN, Bradley T. - Synergy between amyloid- β and tau in Alzheimer's disease. **Nature Neuroscience**. ISSN 15461726. 23:10 (2020) 1183–1193. doi: 10.1038/s41593-020-0687-6.
25. SCHELTENS, Philip *et al.* - Alzheimer's disease. **The Lancet**. ISSN 1474547X. 397:10284 (2021) 1577–1590. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32205-4.
26. DELMOTTE, Koen *et al.* - Prognostic value of amyloid/tau/neurodegeneration (ATN) classification based on diagnostic cerebrospinal fluid samples for Alzheimer's disease. **Alzheimer's Research and Therapy**. ISSN 17589193. 13:1 (2021) 1–13. doi: 10.1186/s13195-021-00817-4.
27. ASHTON, Nicholas J. *et al.* - An update on blood-based biomarkers for non-Alzheimer neurodegenerative disorders. **Nature Reviews Neurology**. ISSN 17594766. 16:5 (2020) 265–284. doi: 10.1038/s41582-020-0348-0.
28. ZETTERBERG, Henrik; BENDLIN, Barbara B. - Biomarkers for Alzheimer's disease—preparing for a new era of disease-modifying therapies. **Molecular Psychiatry**. ISSN 14765578. 26:1 (2021) 296–308. doi: 10.1038/s41380-020-0721-9.
29. HANSSON, Oskar *et al.* - Advantages and disadvantages of the use of the CSF Amyloid β (A β) 42/40 ratio in the diagnosis of Alzheimer's Disease. **Alzheimer's Research and Therapy**. ISSN 17589193. 11:1 (2019) 1–15. doi: 10.1186/s13195-019-0485-0.
30. MOLINUEVO, José Luis *et al.* - **Current state of Alzheimer's fluid biomarkers**. (2018) : Springer Berlin Heidelberg, 2018 Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1932-x> ISBN 0040101819.
31. BĂLAȘA, Adrian Florian; CHIRCOV, Cristina; GRUMEZESCU, Alexandru Mihai - Body fluid biomarkers for alzheimer's disease-an up-to-date overview. **Biomedicines**. ISSN 22279059. 8:10 (2020) 1–21. doi: 10.3390/biomedicines8100421.
32. HULSTAERT, Frank *et al.* - Improved discrimination of AD patients using β -amyloid((1-42)) and tau levels in CSF. **Neurology**. ISSN 00283878. 52:8 (1999) 1555–1562. doi: 10.1212/wnl.52.8.1555.
33. SATO, Chihiro *et al.* - Tau Kinetics in Neurons and the Human Central Nervous System. **Neuron**. ISSN 10974199. 97:6 (2018) 1284-1298.e7. doi: 10.1016/j.neuron.2018.02.015.
34. BRIDEL, Claire *et al.* - Diagnostic Value of Cerebrospinal Fluid Neurofilament Light Protein in Neurology: A Systematic Review and Meta-analysis. **JAMA Neurology**. ISSN 21686149. 76:9 (2019). doi: 10.1001/jamaneurol.2019.1534.

35. DHIMAN, Kunal *et al.* - Cerebrospinal fluid neurofilament light concentration predicts brain atrophy and cognition in Alzheimer's disease. **Alzheimer's and Dementia: Diagnosis, Assessment and Disease Monitoring**. ISSN 23528729. 12:1 (2020). doi: 10.1002/dad2.12005.
36. WELLINGTON, Henrietta *et al.* - Increased CSF neurogranin concentration is specific to Alzheimer disease. **Neurology**. ISSN 1526632X. 86:9 (2016). doi: 10.1212/WNL.0000000000002423.
37. ABDELHAK, Ahmed *et al.* - Blood GFAP as an emerging biomarker in brain and spinal cord disorders. **Nature Reviews Neurology**. ISSN 17594766. 18:3 (2022). doi: 10.1038/s41582-021-00616-3.
38. CHATTERJEE, Pratishtha *et al.* - Plasma glial fibrillary acidic protein is elevated in cognitively normal older adults at risk of Alzheimer's disease. **Translational Psychiatry**. ISSN 21583188. 11:1 (2021). doi: 10.1038/s41398-020-01137-1.
39. PINO, Megan G.; RICH, Kelly A.; KOLB, Stephen J. - Update on Biomarkers in Spinal Muscular Atrophy. **Biomarker Insights**. ISSN 11772719. 16:2021). doi: 10.1177/11772719211035643.
40. PRIOR, Thomas W.; LEACH, Meganne E.; FINANGER, Erika - Spinal Muscular Atrophy. **GeneReviews**. 2020) 1–30.
41. SMERIGLIO, Piera *et al.* - The identification of novel biomarkers is required to improve adult SMA patient stratification, diagnosis and treatment. **Journal of Personalized Medicine**. ISSN 20754426. 10:3 (2020) 1–23. doi: 10.3390/jpm10030075.
42. VERHAART, Ingrid E. C. *et al.* - Prevalence, incidence and carrier frequency of 5q-linked spinal muscular atrophy - A literature review. **Orphanet Journal of Rare Diseases**. ISSN 17501172. 12:1 (2017) 1–15. doi: 10.1186/s13023-017-0671-8.
43. WALDROP, Megan A.; KOLB, Stephen J. - Current Treatment Options in Neurology—SMA Therapeutics. **Current Treatment Options in Neurology**. ISSN 15343138. 21:6 (2019). doi: 10.1007/s11940-019-0568-z.
44. DANGOULOFF, Tamara *et al.* - Systematic literature review of the economic burden of spinal muscular atrophy and economic evaluations of treatments. **Orphanet Journal of Rare Diseases**. ISSN 17501172. 16:1 (2021) 1–16. doi: 10.1186/s13023-021-01695-7.
45. RAO, V. K., Kapp, D., & Schroth, M. - Gene Therapy for Spinal Muscular Atrophy: An Emerging Treatment Option for a Devastating Disease. **Journal of managed care &**

- specialty pharmacy**, (2018) 24(12-a Suppl), S3–S16. <https://doi.org/10.18553/jmcp.2018.24.12-a.s3>
46. MÜNSTER, Tino - Spinal Muscular Atrophy. **Anesthesiologie und Intensivmedizin**. ISSN 14390256. 62:9 (2021) S221–S235. doi: 10.19224/ai2021.s221.
47. RUSSMAN, Barry S. - Spinal muscular atrophy: Clinical classification and disease heterogeneity. **Journal of Child Neurology**. ISSN 08830738. 22:8 (2007) 946–951. doi: 10.1177/0883073807305673.
48. FARRAR, Michelle A.; KIERNAN, Matthew C. - The Genetics of Spinal Muscular Atrophy: Progress and Challenges. **Neurotherapeutics**. ISSN 18787479. 12:2 (2015) 290–302. doi: 10.1007/s13311-014-0314-x.
49. CHIRIBOGA, Claudia A. - Nusinersen for the treatment of spinal muscular atrophy. **Expert Review of Neurotherapeutics**. ISSN 17448360. 17:10 (2017) 955–962. doi: 10.1080/14737175.2017.1364159.
50. MAGRI, Francesca; VANOLI, Fiammetta; CORTI, Stefania - miRNA in spinal muscular atrophy pathogenesis and therapy. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**. ISSN 15821838. 22:2 (2018) 755–767. doi: 10.1111/jcmm.13450.
51. CHEN, Tai-Heng - Circulating microRNAs as potential biomarkers and therapeutic targets in spinal muscular atrophy. **Therapeutic Advances in Neurological Disorders**. ISSN 2040-6207. 13:6 (2020) 1–9. doi: 10.1177/https.
52. HUNTZINGER, Eric; IZAURRALDE, Elisa - Gene silencing by microRNAs: Contributions of translational repression and mRNA decay. **Nature Reviews Genetics**. ISSN 14710056. 12:2 (2011) 99–110. doi: 10.1038/nrg2936.
53. CATAPANO, Francesco *et al.* - Altered Levels of MicroRNA-9,-206, and-132 in Spinal Muscular Atrophy and Their Response to Antisense Oligonucleotide Therapy. **Molecular Therapy - Nucleic Acids**. ISSN 21622531. 5:7 (2016) e331. doi: 10.1038/mtna.2016.47.
54. GANDHI, Gayatri *et al.* - The potential role of miRNA therapies in spinal muscle atrophy. **Journal of the Neurological Sciences**. ISSN 18785883. 427:January (2021) 117485. doi: 10.1016/j.jns.2021.117485.
55. ALVES, Christiano R. R. *et al.* - Serum creatinine is a biomarker of progressive denervation in spinal muscular atrophy. **Neurology**. ISSN 1526632X. 94:9 (2020) e921–e931. doi: 10.1212/WNL.0000000000008762.
56. FREIGANG, Maren *et al.* - Serum creatine kinase and creatinine in adult spinal muscular

- atrophy under nusinersen treatment. **Annals of Clinical and Translational Neurology**. ISSN 23289503. 8:5 (2021) 1049–1063. doi: 10.1002/acn3.51340.
57. EHRENBERG, Alexander J. *et al.* - Relevance of biomarkers across different neurodegenerative. **Alzheimer's Research and Therapy**. ISSN 17589193. 12:1 (2020) 1–11. doi: 10.1186/s13195-020-00601-w.
58. BATES, Gillian P. *et al.* - Huntington disease. **Nature Reviews Disease Primers**. ISSN 2056676X. 1:April (2015) 1–21. doi: 10.1038/nrdp.2015.5.
59. TABRIZI, Sarah J. *et al.* - Huntington disease: new insights into molecular pathogenesis and therapeutic opportunities. **Nature Reviews Neurology**. ISSN 17594766. 16:10 (2020) 529–546. doi: 10.1038/s41582-020-0389-4.
60. GHOSH, Rhia; TABRIZI, Sarah J. - Clinical Features of Huntington ' s Disease. 2018).
61. CARDOSO, Francisco - Huntington Disease and Other Chorea. **Neurologic Clinics**. ISSN 07338619. 27:3 (2009) 719–736. doi: 10.1016/j.ncl.2009.04.001.
62. TABRIZI, Sarah J.; GHOSH, Rhia; LEAVITT, Blair R. - Huntingtin Lowering Strategies for Disease Modification in Huntington's Disease. **Neuron**. ISSN 10974199. 101:5 (2019) 801–819. doi: 10.1016/j.neuron.2019.01.039.
63. PRZYBYL, Lukasz *et al.* - What, when and how to measure—peripheral biomarkers in therapy of huntington's disease. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 14220067. 22:4 (2021) 1–21. doi: 10.3390/ijms22041561.
64. TABRIZI, Sarah J. *et al.* - Targeting Huntingtin Expression in Patients with Huntington's Disease. **New England Journal of Medicine**. ISSN 0028-4793. 380:24 (2019) 2307–2316. doi: 10.1056/nejmoa1900907.
65. FODALE, Valentina *et al.* - Validation of Ultrasensitive Mutant Huntingtin Detection in Human Cerebrospinal Fluid by Single Molecule Counting Immunoassay. **Journal of Huntington's Disease**. ISSN 18796400. 6:4 (2017) 349–361. doi: 10.3233/JHD-170269.
66. RODRIGUES, Filipe B.; BYRNE, Lauren M.; WILD, Edward J. - Biofluid biomarkers in Huntington's disease. **Methods in Molecular Biology**. ISBN 9781493978250. (2018)
67. DONG, Xiaoyu; CONG, Shuyan - MicroRNAs in Huntington's Disease: Diagnostic Biomarkers or Therapeutic Agents? **Frontiers in Cellular Neuroscience**. ISSN 16625102. 15:August (2021) 1–10. doi: 10.3389/fncel.2021.705348.
68. NHUNG NGUYEN, T. P. *et al.* - MicroRNA Alteration, Application as Biomarkers, and

Therapeutic Approaches in Neurodegenerative Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 14220067. 23:9 (2022). doi: 10.3390/ijms23094718.

69. TUNG, Chih Wei *et al.* - The regulatory roles of microRNAs toward pathogenesis and treatments in Huntington's disease. **Journal of Biomedical Science**. ISSN 14230127. 28:1 (2021) 1–11. doi: 10.1186/s12929-021-00755-1.