

Uso da metabolómica como ferramenta de diagnóstico na doença de Parkinson

Experiência profissionalizante na vertente de Investigação e Farmácia Comunitária

Nicolae Bogdan Zavera

Relatório para obtenção do Grau de Mestre em
Ciências Farmacêuticas
(Mestrado Integrado)

Orientador: Prof. Doutora Carla Sofia Pais Fonseca
Coorientador: Mestre Ricardo Diogo Alves Conde

Março de 2022

Agradecimentos

À minha orientadora, a professora Doutora Carla Sofia Pais Fonseca, por toda a dedicação, paciência e disponibilidade que demonstrou durante a realização deste trabalho e também ao meu coorientador Mestre Ricardo Diogo Alves Conde.

À equipa da farmácia Rodrigues dos Santos, por todos os conhecimentos que adquiri.

Aos meus amigos que sempre me apoiaram e estiveram ao meu lado quando mais precisava, nomeadamente a Alexandra Silvestre, Ana Raquel, Luís Lourinho e Margarida Teixeira, por toda a força e motivação que me deram.

Aos meus pais, pelo apoio e força que me deram desde sempre.

Resumo

Esta dissertação está organizada em dois capítulos, que incidirão sobre dois temas distintos: o primeiro tema, presente no primeiro capítulo, consiste num trabalho de revisão bibliográfica sobre a doença de Parkinson e diferentes técnicas, sob investigação, para o diagnóstico e melhor compreensão da patofisiologia desta doença, com destaque para a metabólica; o segundo tema aborda a experiência profissionalizante na Farmácia Comunitária.

Relativamente ao primeiro capítulo, foi feita uma revisão de literatura sobre a metabólica e o seu potencial para aprofundar o conhecimento e auxiliar no diagnóstico da doença de Parkinson. Esta é uma patologia crónica e neurodegenerativa progressiva, associada ao envelhecimento, que se caracteriza pela degeneração dos neurónios dopaminérgicos na *substantia nigra pars compacta*. O diagnóstico desta doença é feito com base nos sinais e sintomas motores que o indivíduo apresenta e que são característicos da doença de Parkinson: tremor em repouso, bradicinesia, rigidez muscular e também a instabilidade postural. Também é possível avaliar os sintomas não motores, que aparecem numa fase mais precoce da doença; no entanto estes poderão estar presentes noutras patologias e o seu uso, em exclusivo, dificultaria o diagnóstico da doença de Parkinson.

Os sintomas motores da doença manifestam-se quando esta já está instalada e grande parte dos neurónios dopaminérgicos da *substantia nigra pars compacta* já degeneraram. Assim, o diagnóstico clínico da doença acontece numa fase considerada tardia sem ter sido possível impedir ou retardar a progressão da doença com algum tipo de terapias neuroprotetoras. Utilizando as técnicas de Ressonância Magnética Nuclear e a espectrometria de massa, vários estudos têm sido feitos em amostras biológicas, como o sangue, o líquido cefalorraquidiano e a urina, a fim de encontrar um biomarcador específico da doença de Parkinson ou um perfil metabólico característico que possa auxiliar no diagnóstico desta patologia. Estas abordagens têm-se mostrado promissoras e poderão, no futuro, ser de grande utilidade na deteção precoce e terapia desta doença.

No segundo capítulo será abordado o segundo tema, que corresponde ao relato da experiência adquirida no estágio em farmácia comunitária, feito na Farmácia Rodrigues dos Santos, em Castelo Branco, desde o dia 1 de março de 2021 até ao dia 9 de julho de 2021, sob orientação da Farmacêutica Sónia Martins. A farmácia comunitária é um

estabelecimento aberto ao público e primeiro local onde as pessoas recorrem quando existe alguma questão de saúde, podendo ser constituída por vários profissionais, incluindo os farmacêuticos. O farmacêutico é um profissional de saúde, que tem como função a promoção da saúde, a transmissão de informação relacionada à saúde e fundamental aos utentes, e por fim, o uso racional do medicamento. Assim, não só será relatada a experiência adquirida no estágio em farmácia comunitária, mas também a sua organização e modo de funcionamento, bem como a importância dos farmacêuticos para o bom funcionamento da farmácia comunitária e satisfação dos utentes.

Palavras-chave

Doença de Parkinson; biomarcador; metabolómica; ressonância magnética nuclear; espectrometria de massa; fluidos biológicos

Abstract

This dissertation is organized into two chapters, which will focus on two different themes: the first theme, present in the first chapter, consists in a scientific literature review on Parkinson's disease and different techniques, under investigation, for the diagnosis and better understanding of the disease and its pathophysiology, with emphasis on metabolomics; the second theme addresses the professional experience in the Community Pharmacy.

Regarding the first chapter, a literature review was carried out on metabolomics and its potential to deepen knowledge and aid in the diagnosis of Parkinson's disease. This is a chronic and progressive neurodegenerative pathology, associated with aging, which is characterized by the degeneration of dopaminergic neurons in the *substantia nigra pars compacta*. The diagnosis of this disease is based on the motor signs and symptoms that patients present and are characteristic of Parkinson's disease: tremor at rest, bradykinesia, muscle rigidity and also postural instability. It is also possible to assess non-motor symptoms, which appear at an earlier stage of the disease; however, these may be present in other pathologies and their exclusive use would make the diagnosis of Parkinson's disease difficult.

The motor symptoms of the disease appear when it is already installed and most of the dopaminergic neurons of the *substantia nigra pars compacta* have already degenerated. Thus, the clinical diagnosis of the disease occurs at a stage considered late without having been able to prevent or delay the progression of the disease with some type of neuroprotective therapies.

Using Nuclear Magnetic Resonance techniques and mass spectrometry, several studies have been carried out on biological samples, such as blood, cerebrospinal fluid and urine, in order to find a specific biomarker of Parkinson's disease or a characteristic metabolomic profile that may aid in the diagnosis of this pathology. These approaches have shown promise and may, in the future, be of great use in the early detection and therapy of this disease.

In the second chapter, the second theme will be addressed, which corresponds to the report of the experience acquired in the internship in community pharmacy, made at Farmácia Rodrigues dos Santos, in Castelo Branco, from March 1, 2021 to July 9, 2021, under the supervision of the pharmacist Sónia Martins.

The community pharmacy is an establishment open to the public and the first place where people go when there is a health issue, and may be made up of several professionals, including pharmacists.

The pharmacist is a health professional, whose function is the promotion of health, the transmission of information related to health and fundamental to the users, and finally, the rational use of the medicine.

Thus, not only the experience acquired in the internship in community pharmacy will be reported, but also its organization and way of functioning, as well as the importance of pharmacists for the proper functioning of the community pharmacy and user satisfaction.

Keywords

Parkinson's disease; biomarker; metabolomics; nuclear magnetic resonance; mass spectrometry; biological fluids

Índice

Capítulo 1- Uso da metabolômica como ferramenta de diagnóstico na doença de Parkinson

1. Introdução	1
2. Objetivos	4
3. Métodos	5
4. Doença de Parkinson	6
4.1 Sinais e Sintomas	6
4.1.1 Sintomas Motores.....	6
4.1.2 Sintomas não-motores	7
4.2 Etiologia.....	8
4.3 Patofisiologia	9
4.3.1 Agregação proteica de α -sinucleína	10
4.3.2 <i>Stress</i> oxidativo e disfunção mitocondrial.....	10
4.3.3 Neuroinflamação	11
4.4 Diagnóstico	14
4.4.1 Tomografia por emissão de positrões e tomografia computadorizada por emissão de fóton único.....	14
4.4.2 Ultrassonografia Transcraniana	18
4.4.3 Limitações.....	19
5. Metabolômica	20
5.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear.....	21
5.1.1 Plasma/soro	22
5.1.2 Líquido cefalorraquidiano.....	25
5.1.3 Urina.....	27
5.2 Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa.....	28
5.2.1 Plasma/soro	29
5.2.2 Líquido Cefalorraquidiano.....	32
5.2.3 Urina	33
5.3 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa	37
5.3.1 Sangue total e plasma/soro	38
5.3.2 Líquido Cefalorraquidiano.....	41
5.3.3 Urina	42

5.4 Resumo das alterações no metaboloma de fluidos biológicos de doentes de Parkinson, detetadas por NMR, LC-MS e GC-MS	43
6. Conclusão	49
7. Referências	50

Índice

Capítulo 2- Estágio em Farmácia Comunitária

1. Introdução	69
2. Organização da Farmácia	69
2.1 Localização e horário de funcionamento	69
2.2 População.....	70
2.3 Recursos Humanos	70
2.4 Organização da farmácia	71
2.4.1 Espaço exterior.....	71
2.4.2 Espaço interior.....	71
2.5 Equipamentos e Materiais	73
2.6 Sistema Informático	73
3. Informação científica e Documentação	74
4. Produtos de Saúde e Medicamentos.....	74
5. Gestão da Farmácia.....	75
5.1 Seleção de Fornecedores e critérios de aquisição de produtos	75
5.2 Encomendas.....	76
5.2.1 Elaboração de encomendas	76
5.2.2 Receção de encomendas, verificação e devolução	77
5.2.3 Marcação de preços.....	78
5.2.4 Armazenamento.....	78
5.3 Controlo dos prazos de validade	79
6. Preparação de medicamentos.....	80
6.1 Aquisição de matérias-primas.....	80
6.2 Preparação de Manipulados	80
6.3 Rotulagem.....	81
6.4 Prazo de validade	81
6.5 Cálculo do PVP dos manipulados	81
6.6 Preparações extemporâneas	81
7. Interação Farmacêutico-Utente-Medicamento	82
7.1 Farmacovigilância	83
7.2 Valormed	83
7.3 Programa Troca de Seringas	84
8. Dispensa de Medicamentos	84
8.1 Prescrições médicas	85

8.1.1 Tipos de prescrições médicas.....	85
8.2 Medicamentos sujeitos a receita médica.....	86
8.3 Estupefacientes e psicotrópicos	87
8.4 Medicamentos não sujeitos a receita médica.....	87
8.5 Regimes de comparticipação.....	88
8.6 Dispensa de medicamentos hospitalares na farmácia comunitária	90
9. Aconselhamento de dispensa de outros produtos de saúde	91
9.1 Produtos de cosmética e higiene corporal	91
9.2 Suplementos Alimentares	92
9.3 Produtos Dietéticos para Alimentação Especial	92
9.4 Medicamentos Veterinários	93
9.5 Medicamentos Homeopáticos.....	93
9.6 Dispositivos médicos	94
10. Serviços de saúde prestados na farmácia	95
10.1 Medição de pressão arterial	95
10.2 Glicémia capilar.....	96
10.3 Colesterol total e triglicéridos	96
10.4 Antropometria.....	97
11. Processamento do receituário e faturação	97
12. Covid-19	98
12.1 Funcionamento da farmácia	99
12.2 Dispensa de Autoteste para despiste à Covid-19	100
12.3 “Programa de testagem CVP- Ensino Superior” na Universidade da Beira Interior	100
12.3.1 Registo, tratamento e validação de dados.....	101
12.3.2 Preparação, recolha e processamento	101
12.3.2 Leitura e comunicação do resultado.....	102
13. Conclusão.....	102

Lista de Figuras

Figura 1 -Ilustração de um neurónio dopaminérgico e o processo de síntese, libertação, recaptação e metabolismo da dopamina.	11
Figura 2 -Ilustração da promoção da resposta inflamatória pelos astrócitos após o aumento da α -sinucleína, derivada dos neurónios, no meio extracelular.	13
Figura 3 - Utilização de ^{11}C -DTBZ PET (à esquerda), ^{123}I -FP-CIT SPECT (no centro), ^{18}F -DOPA (à direita), em que são avaliadas, a atividade do transportador VMAT2, o transportador de dopamina e a atividade da descarboxilase dos aminoácidos aromáticos, respetivamente.....	15
Figura 4 -Análise de um cérebro saudável (à esquerda) e de um cérebro de um doente de Parkinson (à direita) utilizando (^{123}I) β -CIT SPECT. Este permite obter informação acerca da integridade pré-sináptica ao nível dos transportadores de dopamina.....	16
Figura 5 - Diferença entre a utilização da técnica híbrida PET-MRI (imagem à esquerda) e uso de MRI após a utilização da PET, em separado (imagem à direita)	17
Figura 6 -Resultados das imagens obtidas por ^{18}F -DOPA PET (a e b) e ^{123}I -FP-CIT SPECT (c e d) em indivíduos saudáveis (a e c) e em doentes de Parkinson (b e d).....	18
Figura 7 - Sequência das etapas inerentes à análise metabolómica, nomeadamente a colheita da amostra, preparação da amostra, análise da amostra, análise dos dados, identificação do marcador.	21
Figura 8 - Representação gráfica do metabolismo do triptofano.....	34
Figura 9 -Representação gráfica de diagramas de extremos e quartis para cada metabolito identificado na urina de indivíduos do grupo controlo (CON), indivíduos com DP em estágio inicial (EPD), indivíduos com DP em estágio intermédio (MPD) e indivíduos com DP em estágio avançado (APD) da doença.	37

Lista de Tabelas

Tabela 1- Resumo dos genes cujas mutações podem predispor para a DP, proteínas codificadas e possível função no organismo.....	9
Tabela 2- Metabolitos identificados por Ahmed et al. (2009) em plasma de indivíduos com DP e a sua variação comparativamente ao plasma dos indivíduos controlo.....	23
Tabela 3- Metabolitos identificados por Babu et al. (2018) em soro de indivíduos com DP e a sua variação comparativamente ao soro dos indivíduos controlo.	24
Tabela 4- Metabolitos identificados em soro de indivíduos com DP por Toczyłowska et al. (2020) e variação destes comparativamente aos indivíduos controlo	25
Tabela 5- Metabolitos identificados em CSF de indivíduos com DP por Wu et al. (2016) e variação destes comparativamente aos indivíduos controlo.....	27
Tabela 6- Metabolitos identificados em urina de indivíduos com DP por Kumari et al. (2020) e a sua variação comparativamente aos indivíduos controlo.....	28
Tabela 7- Resumo dos metabolitos identificados em plasma de indivíduos com DP por Zhao et al. (2018) e a variação destes comparativamente aos indivíduos controlo	30
Tabela 8- Resumo dos metabolitos identificados em plasma de indivíduos com DP por Shao et al. (2021) e variação destes comparativamente aos indivíduos controlo.....	31
Tabela 9- Metabolitos identificados em CSF de indivíduos com DP por Plewa et al. (2021) e a variação destes comparativamente aos indivíduos controlo	33
Tabela 10- Metabolitos identificados em urina de indivíduos com DP por Luan et al. (2015) e a variação destes comparativamente aos indivíduos controlo.	35
Tabela 11- Metabolitos identificados em plasma de indivíduos com DP por Glaab et al. (2019) e a sua variação comparativamente aos indivíduos controlo	39
Tabela 12- Metabolitos identificados em sangue total de indivíduos com DP por Troisi et al. (2019) e variação destes comparativamente aos indivíduos controlo	40
Tabela 13- Metabolitos alterados no CSF de doentes Parkinson, relativamente a indivíduos controlo, num estudo feito por Trupp et al. (2014)	41

Tabela 14- Metabolitos identificados em urina de indivíduos com DP, por Luan et al. (2015), e a sua variação comparativamente aos indivíduos controlo.....43

Tabela 15- Metabolitos detetados por NMR, LC-MS e GC-MS em sangue (sangue total, plasma ou soro), CSF e urina de doentes de Parkinson. Também se resumem as alterações detetadas na concentração dos metabolitos bem como a interpretação/implicação patofisiológica referida pelos autores dos diferentes estudos relativamente a essas alterações.44

Lista de acrónimos e abreviaturas

Capítulo 1

ATP- Adenosina trifosfato, do inglês *Adenosine TriPhosphate*

CDNF- Fator neurotrófico da dopamina cerebral, do inglês *cerebral dopamine neurotrophic factor*

GDNF- Fator neurotrófico derivado de uma linha de células da glia, do inglês *glial cell line-derived neurotrophic factor*

DNA- Ácido desoxirribonucleico, do inglês *DeoxyriboNucleic Acid*

DP- Doença de Parkinson

HIF-1 α - Fator 1 α indutível por hipoxia, do inglês, *Hypoxia-Inducible Factor-1 α*

GC-MS- Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa, do inglês *Gas Chromatography-Mass Spectrometry*

LC-MS- Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de masa, do inglês *Liquid Chromatography-Mass spetrometry*

LRRK2- *Leucine-rich repeat kinase 2*

MRI- Imagem por ressonância magnética, do inglês *Magnetic Resonance Imaging*

mTORC1- *Mammalian Target Of Rapamycin Complex 1*

NMR- Ressonância magnética nuclear, do inglês *Nuclear Magnetic Ressonange*

PET- Tomografia por emissão de positrões, do inglês *Positron Emision Tomography*

PINK- *P-TEN induced putative kinase 1*

PRKN- *Parkin*

PUFA- Ácidos gordos poli-insaturados, do inglês *Polyunsaturated Fatty Acid*

REM- Movimento rápido dos olhos, do inglês *Rapid Eye Movement*

SNC- Sistema Nervoso Central

SNCA- α -sinucleína

SNpc- *substantia nigra pars compacta*

SPECT- Tomografia computadorizada por emissão de fóton único, do inglês *Single-Photon Emission Computed Tomography*)

TCS-Ultrassonografia transcraniana, do inglês *TransCranial Sonography*

VEGF- Fator de crescimento endotelial vascular, do inglês *Vascular Endothelial Growth Factor*

VMAT- Transportador vesicular das monoaminas, do inglês *Vesicular MonoAmine Transporter*

Lista de acrónimos

Capítulo 2

ANF- Associação Nacional das Farmácias

CNP- Código Nacional do Produto

COVID-19- Doença do Corona vírus, do inglês *Coronavirus Disease 2019*)

CVP- Cruz Vermelha Portuguesa

DCI- Denominação Comum Internacional

DGAV- Direção-Geral de Alimentação e Veterinária

DT- Diretora Técnica

FEFO- First Expire, First Out

FGP- Formulário Galénico Português

FRS- Farmácia Rodrigues dos Santos

IMC- índice de Massa Corporal

INFARMED- Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.

IVA- Imposto sobre o Valor Acrescentado

MICF- Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MIM- Mestrado Integrado em Medicina

MNSRM- Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

MNSRM-EF- Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica de Venda Exclusiva em Farmácia

MSRM- Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

OMS- Organização Mundial de Saúde

PCR- *Polymerase chain reaction*

PVA- Preço de venda ao armazenista

PVF- Preço de Venda à Farmácia

PVP- Preço de Venda ao Público

RAM- Reações Adversas a Medicamentos

SINAVE- Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica

SNS24- Serviço Nacional de Saúde 24

VIH- Vírus da Imunodeficiência Humana

Capítulo 1 – Uso da metabolómica como ferramenta de diagnóstico na doença de Parkinson

1. Introdução

A doença de Parkinson (DP) é uma doença degenerativa progressiva do Sistema Nervoso Central (SNC), não existindo cura atualmente (1). É a segunda doença neurodegenerativa mais comum que surge geralmente a partir dos 65 anos, sendo mais prevalente nos homens (2).

A doença é caracterizada por sintomas motores como a dificuldade na locomoção (presente entre 80 a 90% dos pacientes), rigidez muscular (também está presente entre 80 a 90% dos pacientes), tremores em repouso (presente entre 70 a 90% dos pacientes; envolvem inicialmente as mãos podendo progredir posteriormente para o queixo, língua, lábios e pernas), instabilidade postural (presente em estágios mais avançados da doença), disartria e distonia (1). Também estão presentes sintomas não motores como a hiposmia ou anosmia, depressão, psicose, demência, sialorreia e distúrbios do sono (1,3).

A sua etiologia é desconhecida, mas acredita-se que poderão estar envolvidos múltiplos fatores, como os genéticos, ambientais e hormonais, bem como a sua interação (4).

No que concerne à patofisiologia desta doença, esta caracteriza-se por um processo neurodegenerativo lento que se propaga a diferentes áreas do sistema nervoso, refletindo-se numa perda dos neurónios dopaminérgicos da *substantia nigra pars compacta* (SNpc) que projetam para o corpo estriado, com conseqüente aparecimento dos característicos sintomas motores da doença (1). Estes sintomas vão aparecendo e piorando à medida que a neurodegeneração progride, embora os doentes de Parkinson apenas apresentem sintomas motores após haver uma perda entre 50 a 80% dos neurónios dopaminérgicos (1). Assim este facto remete para uma urgente alternativa, precisa e de confiança, para o seu diagnóstico precoce pois quanto mais rápido este acontece, mais cedo poderá começar a intervenção terapêutica, já que os sintomas apenas aparecem após haver uma grande degeneração neuronal.

Um diagnóstico precoce da DP será útil, no futuro, não só para conhecimento da doença que está a afetar um doente, como também para a administração atempada de substâncias neuroprotetoras, atualmente em investigação, a fim de parar ou retardar a neurodegeneração. Alguns exemplos dessas substâncias promissoras com potencial neuroprotetor são o ácido úrico (5,6), coenzima Q10 (7) minociclina (8) e fatores neurotróficos, como o fator neurotrófico da dopamina cerebral (CDNF, do inglês *cerebral dopamine neurotrophic factor*) ou o fator neurotrófico derivado de uma linha de células da glia (GDNF, do inglês *glial cell line-derived neurotrophic factor*) (9).

Atualmente o diagnóstico da DP é clínico, sendo baseado apenas nos sinais e sintomas apresentados pelos doentes e algumas técnicas poderão ser usadas, no futuro, para auxiliar nesse diagnóstico, tais como a tomografia por emissão de positrões (PET, do inglês *Positron Emission Tomography*), a tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT, do inglês *Single-photon Emission Computed Tomography*) e a ultrassonografia transcraniana (TCS, do inglês *Transcranial Sonography*). Estas técnicas possuem algumas vantagens: são minimamente invasivas e possibilitam a visualização de disfunções em determinadas vias neuronais. No entanto, também apresentam desvantagens: são dispendiosas, muitas vezes só estão disponíveis em centros urbanos de maiores dimensões, limitando o acesso a um número considerável de doentes.

Existem estudos que relatam alterações na concentração de algumas moléculas específicas nos indivíduos afetados pela doença, como é o caso do aumento da concentração de α -sinucleína no plasma de doentes de Parkinson (10), sendo esta a molécula mais estudada, e a diminuição da 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina no líquido cefalorraquidiano destes doentes (11), embora esta última não seja específica para a DP. No entanto, sendo uma doença multifatorial, é necessário que um método de diagnóstico possa avaliar o maior número possível de fatores patofisiológicos a fim de auxiliar no diagnóstico preciso da DP. Portanto, um potencial método de diagnóstico com base na análise do perfil metabolómico de amostras biológicas de doentes poderá ser útil. A metabolómica consiste na análise de metabolitos (moléculas de baixo peso molecular, < 1,5 kDa) em sistemas biológicos possibilitando a compreensão do perfil metabolómico e permitindo a deteção de variações na concentração destas moléculas que, por sua vez, refletem alterações no metabolismo (4,12). As amostras analisadas são habitualmente biofluidos, tais como o sangue, o líquido cefalorraquidiano e a urina, ou metabolitos extraídos de amostras de tecidos. Assim, a identificação de alterações no perfil metabolómico de amostras biológicas que possam ser associadas à DP poderá futuramente auxiliar tanto no diagnóstico como na deteção

precoce desta doença, e a introdução de terapias com efeito neuroprotetor que possam parar ou retardar a progressão da doença (13).

2. Objetivos

A presente monografia tem como objetivo realizar uma revisão da literatura científica sobre a DP, sua etiologia, patofisiologia, sintomas e meios de diagnóstico, atuais e sob investigação, com destaque para a metabolómica como técnica promissora para aprofundar o conhecimento dos mecanismos envolvidos nesta patologia e auxiliar no seu diagnóstico.

A metabolómica é uma técnica usada para a pesquisa de biomoléculas de baixo peso molecular (metabolitos) em sistemas biológicos que possam ser utilizadas como marcadores de doenças, tendo impacto tanto no diagnóstico como na avaliação da progressão das mesmas. Trata-se, portanto, de uma ferramenta poderosa e inovadora que poderá auxiliar na identificação de potenciais biomarcadores da doença de Parkinson. Para tal, será feita uma revisão sobre as aplicações atuais da metabolómica no contexto da DP, as suas potencialidades e as perspectivas para o futuro, no que diz respeito à utilização desta tecnologia no diagnóstico e melhor compreensão desta doença.

3. Métodos

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica na base de dados PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) com a associação da palavra “Parkinson” com as palavras “*etiology*”, “*symptoms*”, “*biomarker*”, “*diagnosis*”, “*metabolomics*”, “*mass spectrometry*”, “*LC-MS*”, “*GC-MS*”, “*blood*”, “*cerebrospinal fluid*” e “*urine*” Foram selecionados duzentos e cinquenta artigos, escritos em inglês e português, com base no resumo que apresentavam, sem fazer qualquer restrição relativamente à data de publicação, dos quais cento e setenta e sete foram utilizados na elaboração deste trabalho de revisão.

4. Doença de Parkinson

A DP é uma doença neurodegenerativa progressiva que afeta maioritariamente pessoas a partir dos 65 anos de vida, embora existam casos (<5%) de aparecimento desta doença em pessoas com idade inferior a 40 anos (2).

A sua prevalência tem vindo a aumentar nos últimos anos, existindo na Europa entre 257 a 1400 casos por 100 mil habitantes (4). Em Portugal, foi feito um estudo com uma amostra populacional entre os 50 e os 95 anos de idade, num total de 5048 pessoas. O resultado da sua prevalência foi de 180 casos por 100 mil habitantes de Portugal, abaixo da média europeia (14).

4.1 Sinais e Sintomas

4.1.1 Sintomas Motores

Os sintomas motores mais comuns descritos como a “tríade clássica”, são o tremor em repouso, a rigidez muscular, e a bradicinesia sendo frequentemente os primeiros sintomas clínicos da doença. Também surge um quarto sintoma, a instabilidade postural, que aparece dentro dos primeiros cinco anos após o diagnóstico em aproximadamente metade dos doentes (15).

O tremor em repouso, caracterizado por uma frequência entre 4 e 6 Hz, é dos sintomas visíveis que mais é notado e associado à DP, podendo variar desde ligeiro e unilateral até bilateral. Este sintoma está presente em 70 a 90% dos doentes e causa um grande impacto na sua vida quotidiana uma vez que traz grandes dificuldades em funções consideradas simples como comer, escrever ou vestir (16–18).

A rigidez muscular, definida como um aumento de resistência aos movimentos passivos, é maioritariamente detetada pelo médico e não é diretamente caracterizada como um sintoma percebido pelo doente. Entre 80 a 90% dos doentes apresentam este sintoma incapacitante (19).

A bradicinesia é caracterizada pela lentidão ao executar um movimento, podendo a fraqueza e rigidez muscular e o tremor contribuir para tal manifestação. Manifesta-se como dificuldade em começar um movimento e andar lento e arrastado. Ocorre em cerca de 80 a 90% dos doentes (15,20).

4.1.2 Sintomas não-motores

Os sintomas não-motores associados à DP demonstram que não só a via nigrostriatal está comprometida, mas também outras vias e áreas do cérebro, como o nervo vago, o hipotálamo, sistema límbico e neocórtex, havendo também alterações a nível periférico no sistema nervoso autónomo (21).

Assim, estes sintomas na sua maioria são relatados como transtornos de humor, hiposmia, disfunção autónoma (incluindo hipotensão ortostática, disfagia, obstipação, noctúria e incontinência), fadiga e transtorno comportamental do sono REM (movimento rápido dos olhos, do inglês *Rapid Eye Movement*) (22).

Os transtornos de humor mais comuns estão relacionados com a presença de depressão, ansiedade e apatia, que afetam geralmente uma grande percentagem de indivíduos diagnosticados com Parkinson (23). A depressão e a ansiedade estão fortemente associadas à DP e são frequentes nestes doentes, levando à diminuição significativa da qualidade de vida com conseqüente aparecimento de outros sintomas, como problemas de sono e dificuldade em realizar tarefas do quotidiano. Estas duas comorbidades estão muitas vezes associadas e ocorrem em simultâneo, apresentando tanto sintomas depressivos como sintomas de ansiedade (23–25). A apatia diz respeito a um conjunto de comportamentos e emoções como a redução do interesse nas atividades, tanto em iniciá-las como mantê-las até ao fim, falta de preocupação e indiferença perante as situações do dia-a-dia, não estando a apatia relacionada com a presença/ausência de depressão e ansiedade mas sim com complicações cognitivas (26,27).

A hiposmia é definida como uma disfunção olfativa, envolvendo dificuldades em detetar, identificar e discriminar odores (28). Embora tenha impacto ligeiro na vida do doente comparativamente aos outros sintomas, a sua presença remete para uma melhor compreensão e análise da patofisiologia da doença de Parkinson uma vez que mesmo com a progressão da doença, existe a possibilidade de piorar ou não o olfato, abrindo portas para diferentes teorias sobre como isto acontece a nível cerebral, como por exemplo alterações a nível da neurotransmissão nas zonas responsáveis pelo olfato (29–31).

O distúrbio comportamental do sono REM é caracterizado pela perda da paralisia corporal (atonía) que ocorre naturalmente no corpo durante esta fase do sono, para impedir contrações do músculo esquelético com conseqüente movimento corporal (32). Este tipo de distúrbio é de grande interesse, uma vez que pode servir de marcador para um subtipo especial da DP caracterizado pela baixa prevalência de tremores, sugerindo um processo neurodegenerativo diferente do existente em doentes de Parkinson sem este transtorno de

sono (33). Adicionalmente, tem sido sugerido que esta alteração comportamental associada ao sono REM possa preceder sintomas não-motores tais como a disfunção autonómica, permitindo antecipar o diagnóstico da DP (34).

4.2 Etiologia

A DP é caracterizada pela redução dos níveis de dopamina numa zona específica do cérebro, como resultado da morte neuronal dos neurónios dopaminérgicos na SNpc, e também por inclusões no citoplasma dos neurónios, designadas por corpos de Lewy, que têm na sua constituição α -sinucleína (35,36). A dopamina é um neurotransmissor envolvido em múltiplas funções, entre elas o comportamento e recompensa, memória e movimento. Assim, distúrbios na homeostase deste neurotransmissor resultarão em défices e problemas nas funções anteriormente referidas (35,37). Também a presença de sintomas não motores apoiam o envolvimento de outros neurotransmissores de vias glutamatérgicas, colinérgicas, serotoninérgicas e adrenérgicas (1).

Acredita-se que na sua etiologia estão envolvidos múltiplos fatores e a interação entre eles, como por exemplo fatores genéticos, ambientais e hormonais (4,38).

Dentro dos fatores genéticos, podemos mencionar alguns genes cujas mutações podem predispor para uma possível DP (39–41):

-SNCA (gene que codifica a α -sinucleína, do inglês *synuclein alpha*): gene cuja mutação é autossómica dominante e é responsável por aproximadamente 2,5% dos casos de DP;

-LRRK2 (gene que codifica a cinase 2 rica em leucina, do inglês *leucine-rich repeat kinase 2*): gene cuja mutação é autossómica dominante e é responsável por aproximadamente 10% dos casos de DP;

-PRKN/PARK2 (gene que codifica a *parkin RBR E3 ubiquitin protein ligase*): gene cuja mutação tem maior prevalência e é autossómica recessiva, sendo responsável por aproximadamente 15% dos casos de DP antes dos 45 anos de idade;

-PINK1/PARK6 (gene que codifica a *PTEN induced putative kinase 1*): gene cuja mutação é autossómica recessiva, sendo responsável por 1-8% dos casos de DP;

-DJ-1/PARK7 (gene que codifica a proteína DJ-1): gene cuja mutação é autossómica recessiva, sendo responsável por 1-2% dos casos de DP.

A Tabela 1 resume a informação supracitada em relação aos genes, às respetivas proteínas codificadas, e as suas funções no organismo.

Tabela 1- Resumo dos genes cujas mutações podem predispor para a DP, proteínas codificadas e possível função no organismo (41).

Gene	Proteína codificada	Possível função
SNCA	α -sinucleína	Auxílio na libertação de neurotransmissores
LRRK2	LRRK2	-
PARK2	<i>Parkin</i>	Degradação proteica, mantendo a função mitocondrial
PINK1	PINK1	Protetor mitocondrial de <i>stress</i> oxidativo
PARK7	<i>DJ-1</i>	Antioxidante

Determinadas características podem ser consideradas fatores de risco, como a idade, género e etnia, sendo a DP mais prevalente nos homens caucasianos, onde o risco de desenvolver DP é maior a partir dos 50 anos (42).

Relativamente a outros fatores, como os fatores ambientais, existem vários que podem ser considerados fatores de risco e que aumentam a probabilidade de um indivíduo vir a desenvolver DP, como a exposição a pesticidas (por exemplo, organofosfatos e carbamatos) e herbicidas (por exemplo, paraquato e fenoxiacetato), entre outros (43).

Estudos ainda serão necessários para inferir se existem fatores hormonais que poderão aumentar o risco para o desenvolvimento da DP. No entanto já foi colocada a hipótese de que a diminuição precoce dos níveis endógenos de estrogénios devido a várias situações (histerectomia e menopausa) poderá aumentar o risco para o desenvolvimento da doença (44).

4.3 Patofisiologia

A patofisiologia da DP está relacionada com a agregação de α -sinucleína, *stress* oxidativo, resposta inflamatória e também disfunção mitocondrial no encéfalo que levam à morte de neurónios dopaminérgicos da porção compacta da *substantia nigra*, que projetam para o corpo estriado (via nigrostriatal) (1). De seguida, cada um destes fatores será abordado e aprofundado para uma melhor compreensão.

4.3.1 Agregação proteica de α -sinucleína

A agregação da α -sinucleína é um fator importante do desenvolvimento da DP. Esta é uma proteína constituída por 140 aminoácidos localizada predominantemente nos terminais pré-sinápticos dos neurónios. É uma proteína codificada pelo gene SNCA e é expressa em níveis elevados em várias zonas do encéfalo como no cerebelo, hipocampo e *substantia nigra* (45,46). Embora a sua função não seja completamente conhecida, pensa-se que a α -sinucleína auxilia nas sinapses principalmente ao nível das reservas de vesículas com neurotransmissores em neurónios maduros (47).

A agregação desta proteína no citoplasma dos neurónios origina as doenças designadas por sinucleinopatias, onde também se inclui a demência de corpos de Lewy, falência autonómica pura e atrofia multissistémica (48,49).

No tecido neuronal, a agregação de α -sinucleína origina os chamados corpos de Lewy, característicos da DP (4). Esta acumulação dos corpos de Lewy caracteriza-se por um processo lento que se propaga a diferentes áreas do sistema nervoso, resultando na degeneração dos neurónios dopaminérgicos, com conseqüente aparecimento dos respetivos sintomas motores da doença. Estes sintomas vão aparecendo e piorando à medida que ocorre a degeneração embora os doentes de Parkinson apenas apresentem sintomas motores após uma perda entre 50% a 80% dos neurónios dopaminérgicos, já existindo a presença de corpos de Lewy (1,4,50).

4.3.2 *Stress* oxidativo e disfunção mitocondrial

O *stress* oxidativo tem um papel importante na degeneração dos neurónios dopaminérgicos na DP. Este processo acontece quando os níveis de espécies reativas de nitrogénio e/ou de oxigénio (incluindo o radical anião superóxido, o radical hidroxilo e o peróxido de hidrogénio) ultrapassam o mecanismo antioxidante do organismo, havendo um aumento destas espécies reativas que levam a danos ao nível dos lípidos, proteínas e do ácido desoxirribonucleico (DNA) (51,52).

Este aumento de espécies reativas está relacionado com uma disfunção mitocondrial, em que existem mitocôndrias que possuem, por exemplo, danos a nível do DNA (53). Esta disfunção mitocondrial não só levará a uma maior produção de espécies reativas, devido à disrupção da cadeia respiratória, como também será promovida a desregulação da homeostase do cálcio (53). Este processo torna-se um ciclo, levando à morte neuronal progressiva (54).

O metabolismo da dopamina também promove o *stress* oxidativo pois a degradação da dopamina leva a um aumento de espécies reativas de oxigénio e a sua oxidação pode gerar neurotoxinas endógenas (55). Após ser metabolizada no citoplasma, é produzido peróxido de hidrogénio e também quinonas derivadas da dopamina. Estas conseguem ligar-se e modificar nucleófilos e também proteínas como a α -sinucleína, levando à conversão desta na sua forma citotóxica e pouco degradável. Posteriormente, a α -sinucleína modificada pode ligar-se e permeabilizar a membrana das vesículas que contêm dopamina, levando à libertação da dopamina no citoplasma, continuando assim o ciclo (56).

A Figura 1 ilustra um neurónio dopaminérgico e o processo de síntese, libertação, recaptação e metabolismo da dopamina, com a formação de espécies reativas de oxigénio e produção de peróxido de hidrogénio, incluindo quinonas derivadas da dopamina. Como ilustrado nesta figura, a dopamina é formada a partir do seu precursor L-DOPA, sendo armazenada nas vesículas sinápticas. Posteriormente é libertada para a fenda sináptica e recaptada. Ao ser recaptada, o seu metabolismo no citoplasma produz espécies reativas que promovem o *stress* oxidativo. O metabolismo também produz quinonas derivadas da dopamina que promovem a disfunção mitocondrial com conseqüente diminuição dos níveis de energia.

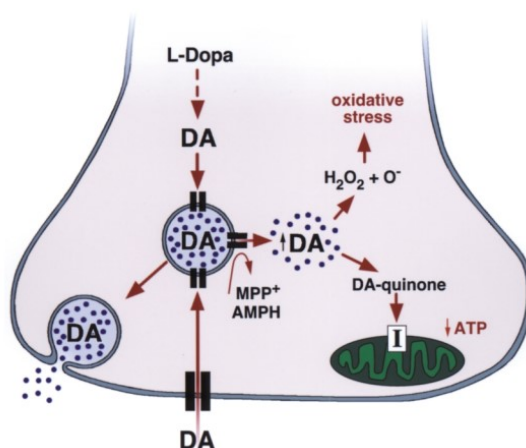


Figura 1-Ilustração de um neurónio dopaminérgico e o processo de síntese, libertação, recaptação e metabolismo da dopamina (57). “ATP”- adenosina trifosfato (do inglês, *Adosine TriPhosphate*); “DA”- dopamina; “DA-quinone”- quinonas derivadas da dopamina; “oxidative stress”- *stress* oxidativo.

4.3.3 Neuroinflamação

A neuroinflamação é definida como uma resposta inflamatória no encéfalo ou na medula espinal, mediada por citocinas, quimiocinas e espécies reativas de oxigénio (58). Esta

promove a reparação de tecidos e pode ser desencadeada tanto por lesões em tecidos como por agentes patogénicos, existindo assim células com capacidade de promover a homeostasia no sistema nervoso central, que são as células da microglia e os astrócitos (59).

As células da microglia (frequentemente comparadas com os macrófagos) são as primeiras células ativadas durante uma resposta inflamatória contra agentes patogénicos e lesões no tecido nervoso, possuindo um papel fundamental na fagocitose desses agentes e também na libertação de fatores neurotróficos e remoção de substâncias tóxicas promovendo a recuperação neuronal (60). Por estas células possuírem na parte externa da sua membrana uns recetores designados por *pattern-recognition receptors* (superior ao número de recetores nos astrócitos), faz com que sejam mais sensíveis e sejam as primeiras células ativadas, libertando espécies reativas de oxigénio e nitrogénio (61). Estas células, por libertarem citocinas e quimiocinas durante uma resposta inflamatória, têm um papel de recrutamento de linfócitos para o Sistema Nervoso Central promovendo a exacerbação da resposta inflamatória, levando à morte dos neurónios dopaminérgicos (62).

No caso da DP, a presença de níveis elevados de α -sinucleína “normal” ou mutada, faz com que haja uma deteção pelas células da glia através do recetor supracitado. Esta deteção constante faz com que exista uma resposta inflamatória prolongada (crónica), resultando na contínua produção de espécies reativas de oxigénio/nitrogénio, contribuindo assim para a morte neuronal dos neurónios dopaminérgicos que são particularmente sensíveis ao aumento do stress oxidativo (61).

Relativamente aos astrócitos, estes são as células da glia mais abundantes, apresentando várias funções, entre elas a manutenção da integridade da barreira hematoencefálica, a remoção do glutamato da fenda sináptica, o controlo do funcionamento das sinapses e a regulação do *stress* oxidativo (63,64). Os astrócitos também têm a função de captar glucose do sangue e armazenar sob a forma de glicogénio, a fim de fornecer energia aos neurónios para o seu normal funcionamento (64).

Estudos mostram que os astrócitos são ativados pela α -sinucleína, estando esta dentro dos astrócitos ou fora, uma vez que esta pode acumular-se dentro dos astrócitos (65). Estas células podem ativar a microglia através da produção de fatores pró-inflamatórios. A resposta inflamatória é maior quando os dois tipos de células são ativados, comparando à resposta inflamatória por parte de um só tipo de células (microglia ou astrócitos) (61).

Como foi dito, altos níveis de α -sinucleína potenciam uma resposta inflamatória pelos astrócitos e, como consequência, ocorre a desregulação destes, comprometendo a remoção do glutamato e também a integridade da barreira hematoencefálica, potenciando assim a morte neuronal (66–68). A Figura 2 ilustra o papel dos astrócitos na promoção da resposta inflamatória devido aos altos níveis de α -sinucleína. Os neurónios libertam a α -sinucleína e esta é internalizada pelos astrócitos. Quando a α -sinucleína se acumula no citoplasma dos astrócitos, estes promovem a produção de citocinas e quimiocinas, que ativam a microglia. Estas células ativadas também produzem citocinas e espécies reativas de nitrogénio e de oxigénio que levam à disfunção dos astrócitos e à toxicidade neuronal. Por fim, todas as funções dos astrócitos como a produção de fatores neurotróficos que garantem a sobrevivência, neurogênese e função sináptica dos neurónios é afetada (69).

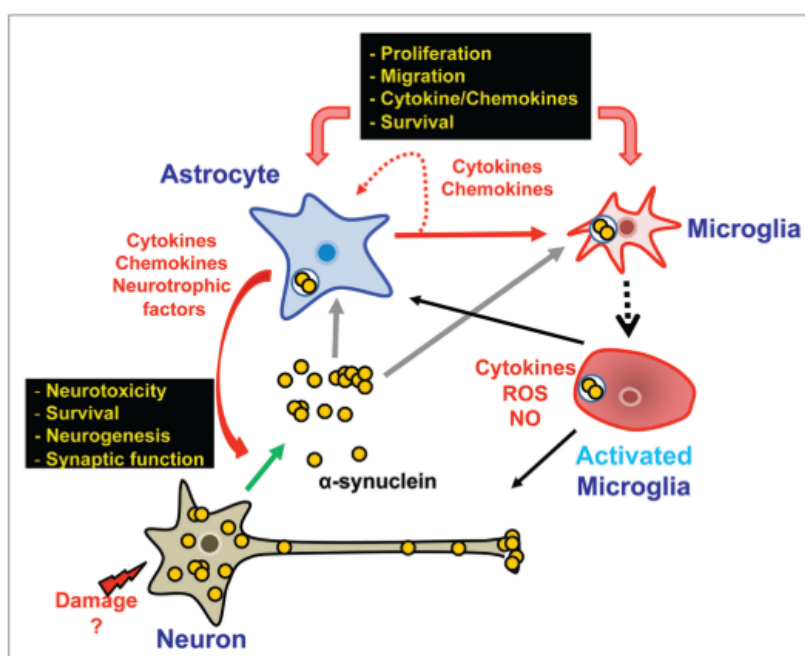


Figura 2- Ilustração da promoção da resposta inflamatória pelos astrócitos após o aumento da α -sinucleína, derivada dos neurónios, no meio extracelular (69). “ α -sinuclein” – α -sinucleína; “*activated microglia*” – microglia ativada; “*astrocyte*” – astrócito; “*cytokines*” – citocinas; “*chemokines*” – quimiocinas; “*damage*” – dano; “*migration*” – migração; “*neurogenesis*” – neurogênese; “*neuron*” – neurónios; “*NO*” – óxido nítrico; “*neurotoxicity*” – neurotoxicidade; “*neurotrophic factor*” – fator neurotrófico; “*proliferation*” – proliferação; “*ROS*” – espécies reativas de oxigênio; “*survival*” – sobrevivência; “*synaptic function*” – função sináptica.

4.4 Diagnóstico

Atualmente o diagnóstico da DP é feito essencialmente com base no historial do doente, na observação dos sinais/sintomas e também na resposta aos agentes dopaminérgicos, como a levodopa. São utilizados principalmente os sintomas motores mais comuns para o seu diagnóstico que começam a manifestar-se de uma forma assimétrica, como o tremor em repouso, rigidez, bradicinesia e também instabilidade postural (70). Estes sintomas são avaliados utilizando escalas clínicas, para a quantificação dos sintomas e da incapacidade resultante destes (71). As escalas mais usadas são a escala de Hoehn e Yahr (72) e a Escala Unificada de Avaliação da Doença de Parkinson (do inglês, *Unified Parkinson's Disease Rating Scale*) (73).

Também são utilizadas técnicas de imagem médica que auxiliam no diagnóstico, permitindo uma análise estrutural e funcional do cérebro e possibilitando um diagnóstico diferencial e mais preciso. São elas a tomografia por emissão de positrões (PET, do inglês *Positron Emission Tomography*), a tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT, do inglês *Single-Photon Emission Computed Tomography*) e a ultrassonografia transcraniana (TCS, do inglês *TransCranial Sonography*) (74,75).

4.4.1 Tomografia por emissão de positrões e tomografia computadorizada por emissão de fóton único

A PET e a SPECT fazem parte das técnicas de imagiologia que conseguem detetar, *in vivo*, alterações metabólicas e também alterações químicas a nível neuronal características da DP com o auxílio de isótopos do flúor [¹⁸F], no caso da PET, e do iodo [¹²³I], no caso da SPECT, entre outros, sendo incorporados em moléculas presentes nas vias cujo estado e atividade se pretende avaliar (76). Neste caso, as moléculas de interesse são, habitualmente, a dopamina (avaliando a atividade dopaminérgica) e a glucose (avaliando o metabolismo celular e produção energética).

Um exemplo da utilização da PET é com o uso do isótopo do flúor [¹⁸F] incorporado na molécula precursora do neurotransmissor dopamina (3,4-di-hidroxi-L-fenilalanina - L-DOPA), modificando-a e originando o [¹⁸F]-DOPA. Esta incorporação permite observar a atividade dopaminérgica pré-sináptica na via nigrostriatal, como o *uptake* e conversão da L-DOPA em dopamina, uma reação catalisada pela descarboxilase dos aminoácidos aromáticos (77). A PET também permite monitorizar o transporte e armazenamento da

dopamina para as vesículas sinápticas nos neurónios, através do transportador vesicular de monoaminas (VMAT, do inglês *Vesicular Monoamine Transporter*), e a ação da dopamina nas células pós-sinápticas via recetor dopaminérgico D2 (por observação da densidade deste recetor) (77). Os marcadores ^{11}C -dihidrotetrabenazina (^{11}C -DTBZ) e ^{123}I -iodobenzamida (^{123}I -IBZM) são frequentemente utilizados na PET e na SPECT, respetivamente, para monitorizar o armazenamento e a ação da dopamina através dos recetores D2 (78). Em resumo, com estas técnicas e com a utilização de diferentes marcadores, é possível detetar alterações patológicas em qualquer um destes processos (*uptake*, síntese, armazenamento pré-sináptico e ação da dopamina ao nível pós-sináptico), auxiliando no diagnóstico da DP.

A Figura 3 mostra a utilização de 3 isótopos diferentes e são comparados cérebros de pessoas saudáveis com cérebros de doentes de Parkinson, utilizando ^{11}C -DTBZ (PET), [^{18}F]-DOPA (PET) e ^{123}I -FP-CIT (SPECT). Quando comparado com um cérebro normal, é possível observar no cérebro de doentes de Parkinson uma diminuição de sinal na parte posterior do *putamen*, contralateral ao lado do corpo clinicamente mais afetado (74).

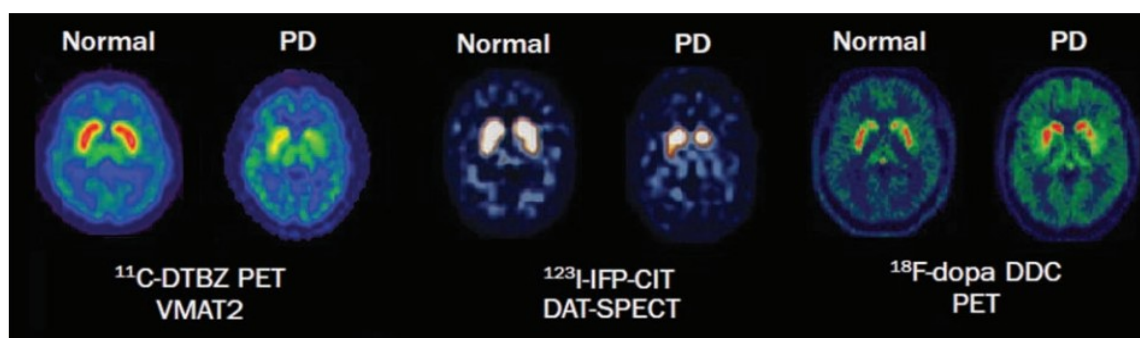


Figura 3- Utilização de ^{11}C -DTBZ PET (à esquerda), ^{123}I -FP-CIT SPECT (no centro), [^{18}F]-DOPA (à direita), em que são avaliadas, a atividade do transportador VMAT2, o transportador de dopamina e a atividade da descarboxilase dos aminoácidos aromáticos, respetivamente (74).

Também a SPECT permite visualizar a incorporação de iodo radioativo ^{123}I nas moléculas para analisar diferentes vias. Utilizando o derivado da cocaína (^{123}I) β -CIT, a SPECT pode ser usada para analisar transportadores da dopamina na membrana pré-sináptica, uma vez que este derivado possui sensibilidade e especificidade para esses transportadores nos neurónios pertencentes à via nigrostriatal (79). Uma alternativa ao uso de (^{123}I) β -CIT pode ser um dos seus derivados, o ^{123}I -FP-CIT, possuindo também grande afinidade para os transportadores pré-sinápticos de dopamina (80).

A figura 4 mostra a utilização de $(^{123}\text{I}) \beta\text{-CIT}$ SPECT, comparando um cérebro normal com um cérebro de um doente de Parkinson. É possível notar no cérebro do doente de Parkinson uma diminuição do sinal presente na parte posterior da putamen, o que se reflete num menor *uptake* de $(^{123}\text{I}) \beta\text{-CIT}$ nessa zona.

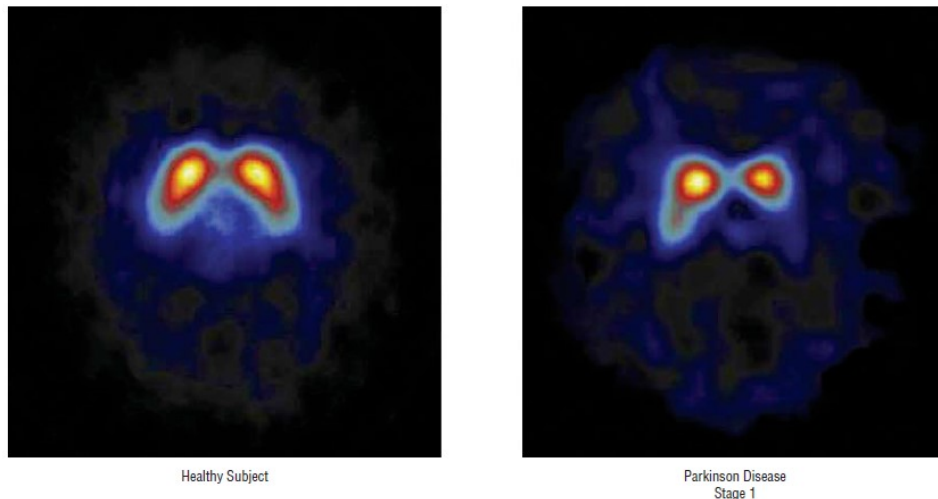


Figura 4-Análise de um cérebro saudável (à esquerda) e de um cérebro de um doente de Parkinson (à direita) utilizando $(^{123}\text{I}) \beta\text{-CIT}$ SPECT. Este permite obter informação acerca da integridade pré-sináptica ao nível dos transportadores de dopamina (81). “*Healthy subject*” – indivíduo saudável; “*Parkinson Disease - Stage 1*” – estágio 1 da doença de Parkinson.

Comparando a PET e a SPECT, existem vantagens e desvantagens relativamente à utilização destas duas técnicas: a SPECT tem a vantagem de ser mais barata devido ao baixo custo de síntese das moléculas marcadas com radioisótopos, o que permite uma investigação num maior número de pessoas. No entanto, é mais difícil obter uma quantificação rigorosa e apresenta limitações no estudo dos gânglios da base devido à sua resolução espacial. A PET é mais cara que a SPECT e está menos disponível; embora tenha sensibilidade e resolução espacial, a dificuldade em estudar a parte interna do globo pálido mantém-se (76,80,82).

Uma técnica usada para aumentar a resolução espacial da PET é a PET associada à imagem por ressonância magnética (MRI, do inglês *Magnetic Resonance Imaging*), ou seja, técnica híbrida de PET-MRI. Esta técnica permite a obtenção de imagens com maior resolução espacial quando comparamos com imagens obtidas pela PET e reconstruídas por MRI, mantendo a elevada sensibilidade associada à PET (83). Assim, a associação destas duas técnicas resulta num aumento da resolução espacial da imagem produzida e sensibilidade, possibilitando um melhor estudo anatómico (83).

A Figura 5 ilustra a utilização da técnica híbrida PET-MRI (à esquerda) como apresentando maior resolução, quando comparada com o uso da MRI após a utilização da PET (à direita), apresentando esta menor resolução.

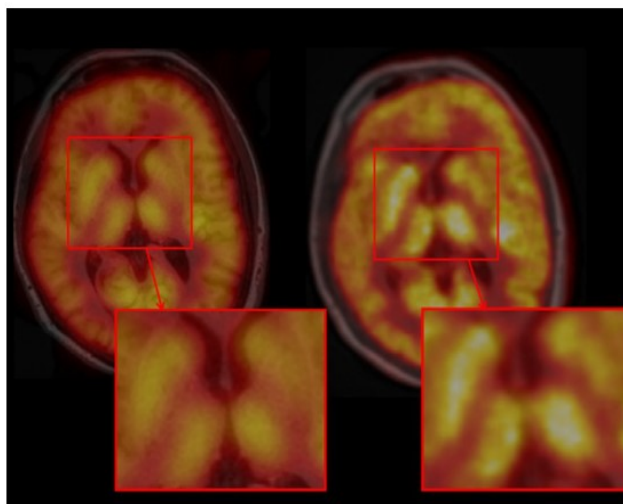


Figura 5- Diferença entre a utilização da técnica híbrida PET-MRI (imagem à esquerda) e uso de MRI após a utilização da PET, em separado (imagem à direita) (83).

Portanto, embora existam estas limitações, continua a existir a possibilidade de observar as vias dopaminérgicas supracitadas (síntese, ligação da dopamina aos recetores pós-sinápticos, densidade dos transportadores pré-sinápticos da dopamina e estudo dos transportadores vesiculares das monoaminas) e detetar alterações nessas vias.

Estudos têm sido feitos utilizando a PET e a SPECT, como por exemplo Eshuis et al. (2009), onde foi feita a comparação entre as imagens obtidas por [^{18}F]-DOPA PET e [^{123}I]-FP-CIT SPECT de doentes de Parkinson e indivíduos controlo (84). Este estudo demonstrou que, em estágios iniciais da DP, é possível observar uma diminuição do *uptake* dos marcadores no corpo estriado, o que se reflete numa disfunção pré-sináptica no *uptake* da dopamina nessa zona.

A Figura 6 demonstra essas diferenças de sinal, nomeadamente uma diminuição deste no corpo estriado no cérebro de doentes de Parkinson, quando comparados com indivíduos controlo.

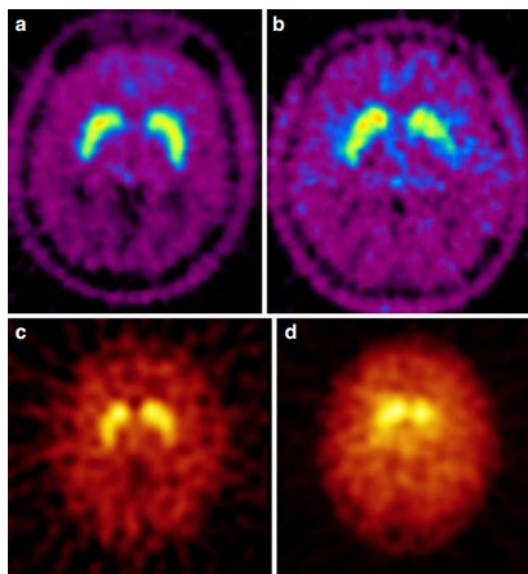


Figura 6-Resultados das imagens obtidas por [^{18}F]-DOPA PET (a e b) e ^{123}I -FP-CIT SPECT (c e d) em indivíduos saudáveis (a e c) e em doentes de Parkinson (b e d) (84).

Outro estudo feito por Pavese et al. (2011) também utilizou a técnica PET com o marcador [^{18}F]-DOPA para acompanhar doentes de Parkinson durante 3 anos e observar a degeneração a nível da via nigrostriatal, com base na alteração do *uptake* deste marcador (85). Neste estudo foi utilizada a técnica supracitada duas vezes: no início do estudo e após 3 anos, para ser possível comparar as imagens obtidas. Foi possível concluir que o maior declínio ocorreu na zona do *putamen* de doentes de Parkinson, quando comparados aos indivíduos controlo.

Concluindo, a PET e a SPECT podem ser usadas como técnicas auxiliares no diagnóstico da DP, bem como na avaliação da progressão da doença.

4.4.2 Ultrassonografia Transcraniana

A TCS foi utilizada pela primeira vez em 1995, num estudo realizado por Becker et al., na identificação e deteção da hiperecogenicidade da *substantia nigra* em doentes de Parkinson (86). A ecogenicidade pode ser entendida como a reflexão de ondas do ultrassom feita por tecidos no organismo. Neste estudo foram examinados indivíduos saudáveis e doentes de Parkinson tendo sido possível observar a presença de hiperecogenicidade da *substantia nigra* no cérebro de doentes de Parkinson. No entanto, este aumento não foi observado em todos os doentes. Quando os doentes de Parkinson

que apresentavam hipercogenicidade da *substantia nigra* foram comparados com os doentes de Parkinson sem hipercogenicidade (isoecogénicos), foi possível concluir que os doentes que apresentavam hipercogenicidade possuíam maior severidade e duração da doença do que aqueles que não apresentavam esse aumento de ecogenicidade. Segundo os autores, o aumento da ecogenicidade da *substantia nigra* em Parkinson severo deve-se ao aumento das células da glia e também às alterações a nível da distribuição celular na substância branca e cinzenta ou a depósitos de minerais (como o cálcio).

No entanto, outros estudos demonstraram que a ecogenicidade da *substantia nigra* não se altera com a progressão da doença em doentes com Parkinson, inferindo que a ecogenicidade não deve ser usada como marcador para o diagnóstico mas sim como uma ferramenta para avaliar o risco e predisposição de um indivíduo vir a desenvolver no futuro a DP (87,88). Não é, portanto, consensual entre os vários autores que a ecogenicidade aumenta com a progressão da DP.

Outro estudo conduzido por Zhu et al. (2017), feito num modelo animal de DP demonstrou que a ecogenicidade poderá estar relacionada com o transporte de ferro e o seu metabolismo nos neurónios da *substantia nigra* com conseqüente acumulação de ferro, e também com o aumento da proliferação das células da microglia (89).

Esta técnica de imagiologia também foi descrita por Walter et al. (2006) como tendo a capacidade de discriminar entre DP com demência e demência com corpos de Lewy com sintomas de parkinsonismo, observando diferentes graus de ecogenicidade e diferentes simetrias presentes entre as duas doenças (75). Neste estudo, foi possível observar que doentes de Parkinson (com e sem demência), apresentavam uma ecogenicidade assimétrica entre a região esquerda e direita do cérebro na *substantia nigra*, enquanto os indivíduos com demência com corpos de Lewy apresentavam simetria.

4.4.3 Limitações

As técnicas de imagem descritas neste capítulo permitem a análise estrutural e funcional do cérebro e avaliação das alterações anatómicas que ocorrem ao nível da via nigrostriatal, possibilitando também observar algumas alterações moleculares a nível das vias dopaminérgicas. No entanto, são técnicas que envolvem custos consideráveis, tempo para a sua execução e possuem uma acessibilidade limitada, uma vez que os equipamentos de PET estão principalmente disponíveis nos principais centros urbanos. Estas técnicas também não permitem analisar a fundo outros factos como a possível desregulação na homeostase de determinados processos que possam influenciar negativamente os

neurónios dopaminérgicos e contribuir para o desenvolvimento da doença, avaliar alterações metabólicas que eventualmente possam estar presentes na DP.

É necessário conhecer melhor, a nível molecular, a patofisiologia da DP e com esse conhecimento colocar a hipótese de que uma molécula ou um conjunto de moléculas cujas concentrações estejam alteradas possa contribuir para o aparecimento da doença ou analisar esse perfil de variações e encontrar um padrão nas alterações a fim de auxiliar no diagnóstico da DP, até agora feito principalmente por observação dos sinais e sintomas que surgem quando a doença já se encontra instalada.

5. Metabolómica

Sendo a DP uma doença clinicamente heterogénea, uma vez que apresenta diferentes associações de sinais e sintomas, rapidez de progressão e resposta a terapias, isto sugere que a doença possa ser dividida em subtipos com etiologias distintas (90). Como descrito no capítulo anterior, as técnicas de imagem médica podem ser usadas para observar a degeneração e diminuição da função dopaminérgica na via nigrostriatal. No entanto existe a necessidade do uso de biomarcadores da DP para conseguir acompanhar e avaliar o processo de degeneração e detetar o mais precoce possível a DP, de uma forma eficiente e simples. Neste sentido, a metabolómica poderá ter uma contribuição importante tanto na compreensão dos mecanismos patológicos como no diagnóstico desta doença.(91,92)

A metabolómica consiste no estudo do metaboloma, ou seja, do conjunto de moléculas de baixo peso molecular (< 1,5 kDa), designadas metabolitos, presentes em amostras biológicas como células, tecidos ou fluidos biológicos. Esta análise permite identificar metabolitos e detetar alterações na sua concentração em amostras biológicas, permitindo assim identificar alterações nas vias metabólicas e bioquímicas (93). A análise do metaboloma, incluindo a identificação e variação da concentração dos metabolitos, reflete o estado atual de um sistema biológico e pode ser útil para se poder acompanhar a alteração deste e a resposta a diferentes estímulos e perturbações. Tal conhecimento poderá permitir a compreensão de várias patologias, tais como doenças cardiovasculares (94), doenças pulmonares (95) e diabetes do tipo II (96).

Na Figura 7 encontra-se esquematizada a sequência das etapas inerentes à análise metabólica: aquisição da amostra biológica, preparação da amostra, análise da amostra, análise dos dados e por fim, identificação do marcador.

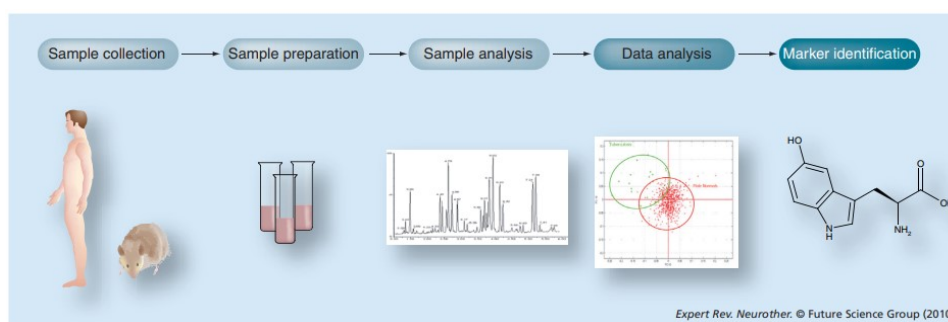


Figura 7- Sequência das etapas inerentes à análise metabolômica, nomeadamente a colheita da amostra, preparação da amostra, análise da amostra, análise dos dados, identificação do marcador (97). “*data analysis*” - análise dos dados; “*marker identification*” - identificação do marcador; “*sample analysis*” - análise da amostra; “*sample collection*” - colheita da amostra; “*sample preparation*” - preparação da amostra.

A utilização da metabolômica na DP poderá permitir a identificação de moléculas específicas que estarão diretamente relacionadas com a doença, permitindo uma análise fidedigna da progressão da doença, bem como a deteção precoce desta, utilizando possíveis biomarcadores identificados através desta técnica (97).

Para a análise do metaboloma e de alterações nas concentrações de determinados metabolitos podem ser utilizadas diferentes técnicas analíticas como a espectroscopia de ressonância magnética nuclear (NMR, do inglês *Nuclear Magnetic Resonance*), a cromatografia gasosa acoplada à espetrometria de massa (GC-MS, do inglês *Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) e a cromatografia líquida acoplada à espetrometria de massa (LC-MS, do inglês *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*), sendo estas combinadas com uma análise estatística multivariada (98–101).

5.1 Espetroscopia de ressonância magnética nuclear

A espectroscopia de NMR é uma técnica poderosa na análise da estrutura química de moléculas (102). Nos últimos anos tem também sido utilizada na análise do metaboloma de células, tecidos e biofluidos, e na identificação de metabolitos diferenciadores em várias patologias (102,103).

Os espectros de NMR são, na sua maioria, unidimensionais e podem ser adquiridos num tempo relativamente curto, resultando numa “impressão digital” do metaboloma da amostra em análise que posteriormente pode ser usada para distinguir grupos específicos de indivíduos, por exemplo um grupo controlo e um grupo de indivíduos com DP (104).

Sendo assim, o objetivo principal da obtenção de um perfil metabólico é procurar diferenças entre o metaboloma de dois grupos de estudo e tentar relacionar com o estado fisiológico em que se encontra cada um dos sistemas (101).

Como qualquer técnica analítica, a espectroscopia de NMR tem vantagens e desvantagens. As principais vantagens da utilização da espectroscopia de NMR são: 1) requer preparação mínima da amostra em comparação com outras técnicas; 2) é uma técnica não destrutiva da amostra, o que significa que a mesma amostra pode ser reaproveitada para ser novamente analisada; 3) é uma técnica com elevada reprodutibilidade entre os estudos feitos (105).

As principais desvantagens da utilização da espectroscopia de NMR são: 1) apenas amostras com concentrações de metabolitos na ordem dos milimolar podem ser analisadas, o que poderá explicar algumas diferenças entre os estudos com RMN e outros estudos com outras técnicas, como a espectrometria de massa; 2) é uma técnica que utiliza equipamento com elevado custo de manutenção (105,106).

De seguida serão apresentados estudos feitos em indivíduos com DP recorrendo à espectroscopia de NMR para a deteção e quantificação de metabolitos em amostras de sangue, líquido cefalorraquidiano (CSF, no inglês *Cerebrospinal Fluid*) e urina, e como esta análise poderá ser útil para o diagnóstico e compreensão da fisiopatologia desta doença.

5.1.1 Plasma/soro

Um estudo feito por Ahmed et al. (2009) analisou amostras de plasma em indivíduos com DP e foram detetadas alterações em 22 metabolitos, dos quais 7 foram considerados de maior importância: citrato, acetato, succinato, malato, mio-inositol, sorbitol e piruvato, em que estes três últimos apresentavam concentrações elevadas em indivíduos com DP e os restantes concentrações baixas, relativamente ao grupo controlo (107). A diminuição da concentração do citrato, acetato, succinato e malato em indivíduos com DP, juntamente com o aumento do piruvato, sugere um problema no ciclo de Krebs. Assim, existe uma menor atividade da enzima responsável pela degradação do piruvato (piruvato desidrogenase). Portanto, uma menor quantidade entrará no ciclo de Krebs, justificando-se a diminuição dos metabolitos anteriormente referidos. No que toca ao aumento da concentração de mio-inositol, este foi associado a uma diminuição da velocidade de condução nervosa do nervo ciático e o aumento da concentração de sorbitol foi associado ao *stress* oxidativo, também referido em Johansen et al. (2005) (107,108).

Na Tabela 2 encontram-se resumidos os metabolitos identificados em plasma de indivíduos com DP por Ahmed et al. (2009), bem como a variação destes comparativamente aos indivíduos controlo (107).

Tabela 2- Metabolitos identificados por Ahmed et al. (2009) em plasma de indivíduos com DP e a sua variação comparativamente ao plasma dos indivíduos controlo (107).

Metabolitos identificados no plasma	Alterações detetadas em doentes de Parkinson relativamente ao grupo controlo (↑ - aumento; ↓ - diminuição)
Acetato	↓
Citrato	↓
Malato	↓
Mio-inositol	↑
Sorbitol	↑
Succinato	↓
Piruvato	↑

Também num estudo feito por Babu et al. (2018) foram detetadas variações nalguns metabolitos em amostras de soro de indivíduos com DP, quando comparados com o grupo controlo (109). Alguns desses metabolitos são a isoleucina, valina, alanina, glutamato, lactato, glucose, histidina e citrato, chegando à conclusão que estes metabolitos estavam em concentrações elevadas em indivíduos com DP. Inicialmente foram elaboradas duas hipóteses para a variação da glucose. Poderia existir algum problema com o transporte da glucose do sangue para o cérebro ou haveria uma diminuição do metabolismo desta no organismo, o que explicaria os níveis elevados no soro. Assim existiria uma privação energética dos neurónios que impediria o seu normal funcionamento. Portanto, seria necessária uma via energética alternativa para suprir as necessidades energéticas. Pode assim ser explicado o aumento da alanina, glutamato e lactato cujo metabolismo destes teria essa finalidade para compensar a crise energética no cérebro. Esta hipótese foi mencionada também por Kori et al. (2016) (110). O aumento da concentração de histidina foi proposto como tendo sido um mecanismo compensatório em resposta ao aumento dos radicais livres de oxigénio, uma vez que a histidina atua como antioxidante. A isoleucina e a valina também se encontravam aumentadas em doentes de Parkinson quando

comparados ao controlo. Estas moléculas entram na reação de síntese da acetilcoenzima A, sendo esta última necessária para o ciclo de Krebs (respiração celular). O aumento observado na concentração de citrato pode estar associado com o aumento da concentração de ácidos gordos. O aumento dos ácidos gordos em amostras de CSF de indivíduos com DP também foi detetado por Fernandez-Irigoyen et al. (2021), sendo estes ácidos gordos usados para a produção de energia nos astrócitos através da sua oxidação (111). Alguns exemplos de razões mencionadas em Fernandez-Irigoyen et al. (2021) para o aumento dos ácidos gordos, são a disfunção sináptica, morte neuronal com consequente instabilidade e rutura das membranas plasmáticas.

A Tabela 3 resume os metabolitos identificados em soro de indivíduos com DP por Babu et al. (2018) bem como a variação destes comparativamente aos indivíduos controlo (109).

Tabela 3- Metabolitos identificados por Babu et al. (2018) em soro de indivíduos com DP e a sua variação comparativamente ao soro dos indivíduos controlo (109).

Metabolitos identificados no soro	Alterações detetadas em doentes de Parkinson relativamente ao grupo controlo (↑-aumento;↓- diminuição)
Alanina	↑
Citrato	↑
Glucose	↑
Glutamato	↑
Histidina	↑
Isoleucina	↑
Lactato	↑
Valina	↑

Outro estudo feito por Toczyłowska et al. (2020), onde foi usado também soro como amostra biológica, detetou alterações ao nível de alguns metabolitos. Demonstrou-se que existia um aumento da concentração de acetato, lisina, glutamina, tirosina e fenilalanina e uma diminuição da concentração de testosterona e glutamato em indivíduos com DP, relativamente ao grupo de controlo (112). Neste estudo foram mencionadas as causas mais

prováveis da alteração dos metabolitos anteriormente referidos: distúrbios na produção de energia e na neurotransmissão.

Na Tabela 4 encontram-se resumidos os metabolitos identificados em soro de indivíduos com DP por Toczyłowska et al. (2020) bem como a variação destes comparativamente aos indivíduos controlo (112).

Tabela 4- Metabolitos identificados em soro de indivíduos com DP por Toczyłowska et al. (2020) e variação destes comparativamente aos indivíduos controlo (112).

Metabolitos identificados no soro	Alterações detetadas em doentes de Parkinson relativamente ao grupo controlo (↑-aumento;↓- diminuição)
Acetato	↑
Citrato	↑
Fenilalanina	↑
Glucose	↑
Glutamato	↓
Glutamina	↑
Histidina	↑
Testosterona	↓
Tirosina	↑

5.1.2 Líquido cefalorraquidiano

O estudo feito por Öhman et al. (2015) analisou amostras de CSF de indivíduos com DP e controlo e foram identificadas variações nas concentrações de vários metabolitos, onde a alanina, creatinina e manose foram os que demonstraram maiores diferenças relativamente ao controlo e estatisticamente significativas (113). Neste estudo também foram analisadas as possíveis justificações para a diferença das concentrações dos três metabolitos supracitados em doentes de Parkinson quando comparados com os controlos. Relativamente à creatinina, uma baixa concentração pode estar relacionada com uma alteração da produção de energia no cérebro, tendo sido mencionado também por Agren et al. (1988) e Swahn et al. (1988) (114,115). A creatinina resulta da conversão da fosfocreatina, que foi originada a partir da transferência de um grupo fosfato da

adenosina-trifosfato (ATP) para a creatina, sugerindo assim que baixos níveis de creatinina estão relacionados com alterações na produção de energia (116,117).

As alterações da concentração de alanina, nomeadamente as baixas concentrações nos doentes de Parkinson em relação ao controlo, também sugerem uma alteração na produção de energia, nomeadamente no metabolismo da glucose (118). Esta diminuição dos níveis de alanina também foi descrita por Mally et al. (1997) (119).

As baixas concentrações de manose em indivíduos com DP implicam também uma alteração no metabolismo da glucose refletindo-se assim uma alteração na produção de energia (120).

Outro estudo conduzido por Wu et al. (2016) analisou amostras de CSF de indivíduos com DP (121). Foram encontradas alterações nos níveis de determinados metabolitos, entre os quais, o ácido 3-hidroxisovalérico, manose, glucose, alanina, isoleucina, leucina e valina. A diminuição da concentração do ácido 3-hidroxisovalérico observada em indivíduos com DP sugere uma ligação entre esta e a degradação da tirosina, uma vez que as duas são substratos da mesma enzima pertencente ao metabolismo da tirosina para que ocorra essa degradação. Esta diminuição dos níveis de ácido 3-hidroxisovalérico também foi observada por Trupp et al. (2014) (92). Os níveis de manose, que está envolvida no metabolismo da glucose, também se encontravam alterados, nomeadamente com uma diminuição da sua concentração (120). Os níveis glucose e alanina encontravam-se aumentados, no entanto outros estudos feitos, nomeadamente por Lewitt et al. (2013) e Mally et al. (1997) demonstraram o contrário: uma diminuição dos níveis de glucose (122) e uma diminuição dos níveis da alanina (119). Os níveis de isoleucina, leucina e valina (que fazem parte da família dos aminoácidos de cadeia ramificada) também se encontravam aumentados em indivíduos com DP quando comparados com o controlo. Alterações na concentração destes aminoácidos têm implicações na síntese de neurotransmissores, tais como o glutamato e a dopamina (123). Em ligação com o que foi anteriormente dito relativamente à leucina, os produtos do seu metabolismo também estavam diminuídos, nomeadamente o ácido 3-hidroxisovalérico, que foi mencionado acima.

A Tabela 5 resume os metabolitos identificados em CSF de indivíduos com DP por Wu et al. (2016) bem como a variação destes comparativamente aos indivíduos controlo (121).

Tabela 5- Metabolitos identificados em CSF de indivíduos com DP por Wu et al. (2016) e variação destes comparativamente aos indivíduos controlo (121).

Metabolitos identificados em CSF	Alterações detetadas em doentes de Parkinson relativamente ao grupo controlo (↑-aumento;↓- diminuição)
Ácido 3-hidroxicinâmico	↓
Alanina	↑
Glucose	↑
Isoleucina	↑
Leucina	↑
Manose	↓
Valina	↑

5.1.3 Urina

Um estudo de Kumari et al. (2020) analisou amostras de urina de indivíduos com DP e também do grupo controlo e registaram um aumento da concentração de ornitina, fenilalanina, isoleucina e β -hidroxibutirato em indivíduos com DP (124). As concentrações elevadas de ornitina em indivíduos com DP foram associadas à disfunção mitocondrial; no entanto, estudos posteriores serão necessários para avaliar o processo patofisiológico associado a este aumento.

A isoleucina, como foi anteriormente referido, está envolvida na síntese de neurotransmissores como o glutamato, e também está envolvida na produção de energia (124). Níveis alterados de isoleucina podem ser atribuídos a uma disfunção do transporte desta através da barreira hematoencefálica (125). Assim, um aumento deste aminoácido em indivíduos com DP pode refletir problemas na produção de energia, resultado do stress oxidativo associado a disfunção mitocondrial (126). Para que haja a síntese de neurotransmissores, é necessário haver precursores disponíveis para que se dê a reação de síntese. Como foi mencionado acima, a isoleucina é também importante para a síntese do glutamato.

Os precursores iniciais da via de biossíntese da dopamina são a fenilalanina e a tirosina: a fenilalanina é convertida em tirosina (reação catalisada pela fenilalanina hidroxilase), a tirosina é convertida em L-DOPA (reação catalisada pela tirosina hidroxilase) e esta é

convertida em dopamina (reação catalisada pela descarboxilase dos aminoácidos aromáticos) (127).

Em concordância com Kumari et al. (2020), também Luan et al. (2015) sugeriu que um aumento da fenilalanina na urina pode ser o reflexo de um distúrbio no metabolismo deste aminoácido e a diminuição da síntese de dopamina em indivíduos com DP poderá ser também atribuída a esta alteração (128).

O aumento de β -hidroxibutirato, que é um corpo cetónico, pode estar associado à sua produção a partir da acetilcoenzima A, quando a produção energética é feita pelo catabolismo dos ácidos gordos (129). Esta necessidade da utilização dos corpos cetónicos poderá resultar num aumento da concentração destes no sangue, e conseqüente, maior excreção destes será observada na urina dos indivíduos com DP.

Na Tabela 6 encontram-se resumidos os metabolitos identificados em urina de indivíduos com DP por Kumari et al. (2020) bem como a variação destes comparativamente aos indivíduos controlo (124).

Tabela 6- Metabolitos identificados em urina de indivíduos com DP por Kumari et al. (2020) e a sua variação comparativamente aos indivíduos controlo (124).

Metabolitos identificados na urina	Alterações detetadas em doentes de Parkinson relativamente ao grupo controlo (↑-aumento;↓- diminuição)
Fenilalanina	↑
β -hidroxibutirato	↑
Isoleucina	↑
Ornitina	↑

5.2 Cromatografia líquida acoplada à espetrometria de massa

A LC-MS é outra técnica usada na análise metabolómica de diferentes amostras biológicas. Possui uma elevada seletividade, especificidade e sensibilidade e permite analisar vários compostos em apenas um ciclo de análise, apresentando vantagens no estudo do perfil metabolómico de biofluidos (130,131) .

Embora a NMR seja uma técnica de eleição para a detecção de metabolitos em amostras biológicas, como foi anteriormente mencionado, apresenta algumas limitações. A principal diz respeito à sua sensibilidade, em que apenas metabolitos com concentrações da ordem dos micromolar podem ser detetados (132)

Assim, algumas vantagens da utilização da LC-MS são: 1) possibilidade de detetar e quantificar metabolitos com concentrações na ordem do femtomolar (10^{-15}) a atomolar (10^{-18}), que estão abaixo do limite de detecção da NMR; 2) é uma técnica com um custo mais baixo em relação à NMR (132).

No entanto também apresenta algumas desvantagens / limitações: 1) existe um baixo controlo e capacidade de prever a formação de adutos; 2) possui uma baixa reprodutibilidade na sua utilização; 3) poderá existir o fenómeno de supressão iónica em que na presença de mais do que um componente numa mistura, há uma redução no sinal referente aos analitos de interesse (130,131).

De seguida serão apresentados alguns estudos feitos com a LC-MS e também os resultados obtidos, utilizando amostras de plasma/soro, CSF e urina para demonstrar a sua utilização na identificação de metabolitos em indivíduos com DP e também o modo como esta identificação e quantificação de metabolitos pode auxiliar no diagnóstico.

5.2.1 Plasma/soro

Relativamente à pesquisa de biomarcadores e também ao uso da técnica LC-MS para auxiliar no diagnóstico da DP, Zhao et al. (2018) analisaram amostras de plasma de indivíduos com DP e também de grupo controlo e identificaram metabolitos cujas concentrações estavam significativamente alteradas em indivíduos com DP (38). Neste estudo, dividiram os metabolitos em 4 grupos diferentes: aminoácidos aromáticos (fenilalanina e tirosina), ácidos gordos, fosfolípidos e ácidos biliares. Também foi mencionado o papel importante da carnitina e da sua quantificação no plasma.

Como foi descrito anteriormente, a fenilalanina é um aminoácido precursor da tirosina que, por sua vez, é precursora das catecolaminas (dopamina, epinefrina e norepinefrina). Foi descrito neste estudo um aumento da concentração da fenilalanina e também do ácido vaniláctico em amostras de plasma de indivíduos com DP (38). Outro estudo também relatou, para além da fenilalanina e tirosina, a importância da desregulação da via metabólica do triptofano no desenvolvimento da DP, sugerindo que estes três metabolitos estão intimamente relacionados com esta patologia (133).

Os níveis dos ácidos biliares também estavam desregulados em indivíduos com DP, mais precisamente, estavam aumentados (38). Esta alteração poderá estar relacionada com a

desregulação das hormonas esteroides, uma vez que os ácidos biliares são importantes na homeostase do colesterol (134), necessário à síntese dessas hormonas (135).

Relativamente aos ácidos gordos, foram detetadas baixas concentrações do ácido valérico e elevadas concentrações do ácido 2-octenóico em amostras de plasma de indivíduos com DP quando comparados com o grupo controlo (38). Para além disso, os níveis de carnitina encontravam-se reduzidos. Tanto as alterações dos ácidos gordos como da carnitina sugerem uma disfunção mitocondrial com conseqüente distúrbio na produção de energia. A entrada dos ácidos gordos de cadeia longa para a mitocôndria é um processo dependente da carnitina (136). Assim, distúrbios no metabolismo dos ácidos gordos também está intimamente relacionado com distúrbios no metabolismo da carnitina em indivíduos com DP.

Na Tabela 7 encontram-se resumidos os metabolitos identificados em plasma de indivíduos com DP por Zhao et al. (2018) bem como a variação destes comparativamente aos indivíduos controlo (38).

Tabela 7- Resumo dos metabolitos identificados em plasma de indivíduos com DP por Zhao et al. (2018) e a variação destes comparativamente aos indivíduos controlo (38).

Metabolitos identificados no plasma	Alterações detetadas em doentes de Parkinson relativamente ao grupo controlo (↑-aumento;↓- diminuição)
Ácidos biliares	↑
Ácido valérico	↓
Ácido vaniláctico	↑
Ácido 2-octenóico	↑
Carnitina	↓
Fenilalanina	↑

Outro estudo conduzido por Shao et al. (2021) analisou amostras de plasma de indivíduos com DP e também do grupo controlo, utilizando a técnica LC-MS, e foram encontradas alterações na concentração de diversos metabolitos (137). Da análise desses metabolitos, quatro demonstraram ter potencial como biomarcadores: ácido indoleláctico, ácidos gordos 10:0, ácidos gordos 12:0 e fenilacetil-glutamina (Tabela 8). Todos os metabolitos encontrados alterados neste estudo apontam para distúrbios no metabolismo relacionado

com os ácidos gordos livres, das hormonas esteroides e também no metabolismo de aminoácidos.

Tabela 8- Resumo dos metabolitos identificados em plasma de indivíduos com DP por Shao et al. (2021) e variação destes comparativamente aos indivíduos controlo (137).

Metabolitos identificados no plasma	Alterações detetadas em doentes de Parkinson relativamente ao grupo controlo (↑-aumento;↓- diminuição)
Ácido araquidónico	↓
Ácido indolelático	↓
Ácido linoleico	↓
Ácido linolénico	↓
Fenilacetil-glutamina	↑

A alteração no metabolismo dos ácidos gordos também foi anteriormente relatada por Burté et al. (2017) e por Shah et al. (2019) no soro e no plasma de doentes de Parkinson, respetivamente (138,139).

Esta análise das alterações metabólicas dos ácidos gordos é importante uma vez que estes possuem papéis fundamentais para o organismo: reservas energéticas e fornecimento de energia através da oxidação dos ácidos gordos, formação de membranas, e participam também na síntese de moléculas sinalizadoras (140).

Shao et al. (2021) reportaram também alterações no metabolismo do ácido linoleico, ácido linolénico e ácido araquidónico (que são ácidos gordos) (137). Estes últimos encontravam-se em concentrações mais baixas no plasma de indivíduos com DP quando comparado com indivíduos do grupo controlo. Foi também relatado em estudos anteriores, nomeadamente por Sharon et al. (2003) (141) e Kawahata et al. (2019) (142), que os ácidos gordos poli-insaturados de cadeia longa (PUFA, do inglês *PolyUnsaturated Fatty Acid*) podem ligar-se às moléculas de α -sinucleína e acelerar a formação de depósitos.

A variação da concentração de ácido indolelático em indivíduos com DP, nomeadamente a sua diminuição, quando comparada com o grupo controlo, poderá estar relacionada com o metabolismo do triptofano (137).

A concentração de fenilacetil-glutamina encontrava-se elevada no plasma de indivíduos com DP quando comparados com o grupo controlo (137). Este aumento também foi reportado no soro de doentes de Parkinson por Cirstea et al. (2020) (143). A fenilacetil-glutamina é um produto resultante da degradação proteica pelas bactérias intestinais que ocorre quando o trânsito intestinal é lento, podendo este facto ter ligação com distúrbios gastrointestinais relatados na DP, como a obstipação.

5.2.2 Líquido Cefalorraquidiano

Utilizando amostras de CSF, um estudo feito por Plewa et al. (2021) pesquisou metabolitos cujas concentrações estivessem alteradas em indivíduos com DP quando comparados com o grupo controlo e foram encontrados os seguintes compostos: tirosina, putrescina, trans-4-hidroxiprolina e prolina (144). O aumento dos níveis de tirosina na DP, como referido anteriormente, poderá ser devido à tentativa de compensação dos neurónios dopaminérgicos para produzir dopamina nas situações em que esta está em quantidades reduzidas devido à degeneração desses mesmos neurónios. Os níveis de putrescina em indivíduos com DP estavam elevados quando comparados com o grupo controlo. A putrescina faz parte de um grupo químico, designado por poliaminas, e foi feito um estudo *in vitro* por Anthony et al. (2002) onde foi verificado que a presença das poliaminas promove a agregação da α -sinucleína, uma vez que elas ligam-se a esta proteína, acelerando o processo (145).

No estudo feito por Plewa et al. (2021) foi verificado que a concentração de prolina estava diminuída e a de hidroxiprolina estava aumentada e foi colocada a hipótese de que a prolina e a hidroxiprolina possam ter um papel no processo neurodegenerativo na DP (144). A prolina (tendo a hidroxiprolina como um dos seus metabolitos) é um aminoácido que possui vários papéis no organismo: é uma molécula sinalizadora, é fonte de anião superóxido, possui um papel fundamental na diferenciação de células e também é um aminoácido fundamental na síntese de moléculas reguladoras do DNA e síntese proteica, sendo obtido a partir da degradação do colagénio por ação da enzima prolidase (146). O metabolismo da prolina origina espécies reativas de oxigénio que funcionam como “*triggers*” para os sinalizadores celulares, levando a autofagia e apoptose das células, podendo este mecanismo estar relacionado com o *stress* oxidativo e consequente neurodegeneração observada em indivíduos com DP (147).

A hidroxiprolina inibe a degradação do fator 1α indutível por hipoxia (HIF- 1α , do inglês *Hypoxia-inducible factor-1 α*), efeito descrito por Surazynski et al. (2008) (148). Com esta

inibição da degradação, os níveis de HIF-1 α aumentam e, como consequência, a expressão do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF, do inglês *Vascular Endothelial Growth Factor*) aumenta (149). Este aumento anormal de VEGF promove edema cerebral que pode deteriorar os neurónios dopaminérgicos (150).

Este mecanismo envolvendo a prolina e a hidroxiprolina deve ser estudado com maior profundidade em estudos posteriores para melhor se compreender o seu efeito na patofisiologia da DP, podendo, hipoteticamente, a via metabólica da prolina ser alterada para fins de neuroproteção ou possivelmente ser usada como biomarcador.

A Tabela 9 resume os metabolitos identificados em CSF de indivíduos com DP por Plewa et al. (2021) bem como a variação destes comparativamente aos indivíduos controlo (144).

Tabela 9-Metabolitos identificados em CSF de indivíduos com DP por Plewa et al. (2021) e a variação destes comparativamente aos indivíduos controlo (144).

Metabolitos identificados em CSF	Alterações detetadas em doentes de Parkinson relativamente ao grupo controlo (\uparrow-aumento;\downarrow- diminuição)
Prolina	\downarrow
Putrescina	\uparrow
Tirosina	\uparrow
Trans-4-hidroxiprolina	\uparrow

5.2.3 Urina

Num estudo feito por Luan et al. (2015) foram analisadas amostras de urina de indivíduos com DP e também de um grupo controlo e foram detetadas alterações nas concentrações de alguns metabolitos, tendo estes sido agrupados em grupos relacionados com as suas vias metabólicas: esteroidogénese, β -oxidação dos ácidos gordos e metabolismo do triptofano (151).

Analisando a via metabólica da esteroidogénese, os níveis elevados de cortisol, 11-deoxicortisol e 21-deoxicortisol (todos eles glucocorticoides) estavam elevados na urina dos indivíduos com DP quando comparados com o grupo controlo. Os glucocorticoides foram relatados como tendo efeitos sobre determinadas funções nos neurónios no cérebro: síntese dos neurotransmissores (incluindo a dopamina) e síntese de proteínas específicas

que desempenham papel de recetores (152,153). Assim, este aumento de cortisol, de 11-deoxicortisol e 21-deoxicortisol podem ser indicativos da DP como também fator de risco para ela. O cortisol também foi relatado como potencial indicador de *stress* oxidativo no cérebro (154).

Na via metabólica relativa à β -oxidação dos ácidos gordos, os níveis de acetil-carnitinas estavam elevados em indivíduos com DP. A β -oxidação dos ácidos gordos ocorre na mitocôndria. Assim, na existência de disfunção mitocondrial, existe uma acumulação de acetilcoenzima A na mitocôndria resultando num aumento de moléculas pertencentes ao grupo de acetil-carnitinas, posteriormente excretadas na urina (155).

Relativamente à via metabólica do triptofano analisada, os seus metabolitos quinurenina, ácido xanturético e o ácido hidroxiantranílico estavam elevados na urina em indivíduos com DP quando comparados com o grupo controlo. O distúrbio na vida metabólica do triptofano e aumento dos seus metabolitos anteriormente referidos, foram relatados como neurotóxicos e o seu distúrbio promove a disfunção mitocondrial com consequente disfunção energética levando a neurodegeneração (156).

A Figura 8 ilustra a via metabólica do triptofano, cujo processo origina o ácido quinurénico.

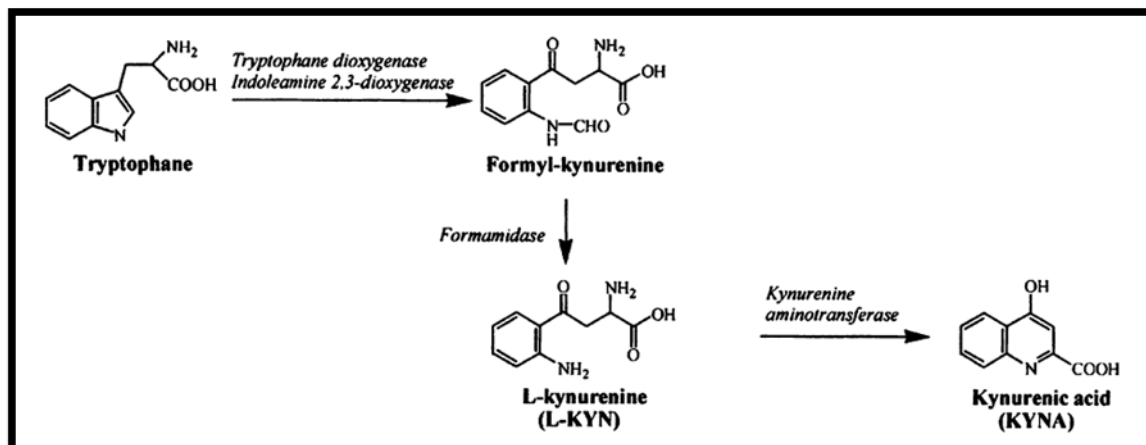


Figura 8- Representação gráfica do metabolismo do triptofano (157). “*formamidase*”- formamidase; “*formyl-kynurenine*”- formil-quinurenina; “*indoleamine 2,3-dioxygenase*”- indolamina 2,3-dioxigenase; “*kinurenic acid*”- ácido quinurénico; “*kynurenine aminotransferase*”- quinurerina aminotransferase; “*L-kynurenine*”- L-quinurenina; “*Tryptophane*”-triptofano; “*tryptophane dioxygenase*”- triptofano dioxigenase.

Por outro lado, os níveis de ácido quinurénico estavam inalterados. O ácido quinurénico é um dos principais metabolitos pertencentes ao metabolismo do triptofano e da quinurenina e poderá ser considerado um agente neuroprotetor (157). Assim, Luan et al. (2015) avaliou o rácio quinurenina/ácido quinurénico e concluiu que este ratio estava aumentado nos indivíduos com DP quando comparados ao controlo (151). Foi então possível sugerir que o aumento dos níveis de quinurerina e a estabilização do ácido quinurénico (neuroprotetor) potenciavam a neurodegeneração.

A Tabela 10 resume os metabolitos identificados em urina de indivíduos com DP por Luan et al. (2015) bem como a variação destes comparativamente aos indivíduos controlo (151).

Tabela 10-Metabolitos identificados em urina de indivíduos com DP por Luan et al. (2015) e a variação destes comparativamente aos indivíduos controlo (151).

Metabolitos identificados na urina	Alterações detetadas em doentes de Parkinson relativamente ao grupo controlo (↑-aumento;↓- diminuição)
Acetil-carnitinas	↑
Ácido hidroxiantranílico	↑
Ácido xanturético	↑
Cortisol	↑
11-deoxicortisol	↑
21-deoxicortisol	↑
Quinurenina	↑

Outro estudo também conduzido por Luan et al. (2015) analisou amostras de urina de indivíduos com DP e de um grupo controlo. Foram encontradas alterações nas concentrações de alguns metabolitos e agrupados segundo a via metabólica afetada nos indivíduos com DP: aminoácidos de cadeia ramificada, derivados da glicina, metabolismo do triptofano, metabolismo da fenilalanina, metabolismo da lisina, metabolismo da histidina, ciclo do ácido cítrico e esteroidogénese (128).

Este estudo é um ótimo exemplo de como se podem combinar as técnicas LC-MS e GC-MS para analisar o perfil metabolómico de um biofluido. Nesta secção serão abordados os

metabolitos detetados usando a técnica LC-MS e posteriormente, na secção 5.3.3, serão abordados os metabolitos detetados na urina com a técnica GC-MS.

Assim, os metabolitos detetados na urina dos indivíduos com DP utilizando a técnica LC-MS foram: cortisol, dihidrocortisol, hidroxiprogesterona, 21-deoxicortisol, quinurenina, hidroxitriptofano, ácido xanturético e acetilfenilalanina (128). Relativamente à esteroidogénese, os níveis de cortisol e dos seus derivados (dihidrocortisol, hidroxiprogesterona, 21-deoxicortisol) estavam aumentados na urina de indivíduos com DP quando comparados ao controlo. No entanto, o 21-deoxicortisol apenas estava significativamente aumentado em doentes de Parkinson em estágio médio e avançado. Como foi anteriormente referido, estes níveis alterados poderão indicar um aumento do stress oxidativo e alterações na esteroidogénese (154).

Um aumento dos níveis dos metabolitos do triptofano (quinurenina, hidroxitriptofano, ácido xanturético) na urina dos indivíduos com DP também foi observado e a interpretação desta observação foi idêntica à do estudo anterior, também conduzido por Luan et al. (2015): distúrbios na via metabólica do triptofano refletem a disfunção mitocondrial e potenciam a neurodegeneração (156).

A variação dos níveis de fenilalanina (detetado com GC-MS) e do seu metabolito, acetilfenilalanina (detetado com LC-MS), nomeadamente o seu aumento na urina dos indivíduos com DP, indicam um distúrbio na sua via metabólica em estádios iniciais da doença. Como foi anteriormente referido, este aminoácido é importante para a síntese de dopamina, pois atua como seu precursor (127).

Na Figura 9 estão representadas as variações nos níveis dos metabolitos identificados sob a forma de diagramas de extremos e quartis. Cada metabolito apresenta quatro diagramas onde um é pertencente aos indivíduos do grupo controlo, e os outros três relativamente aos indivíduos com DP divididos em três estágios da doença: inicial, intermédio e avançado.

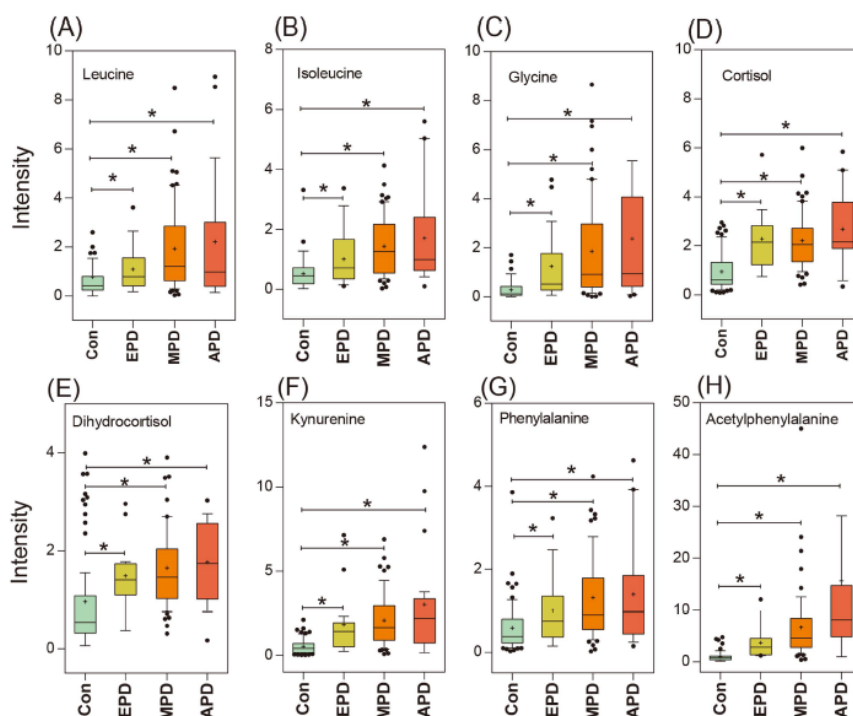


Figura 9-Representação gráfica de diagramas de extremos e quartis para cada metabolito identificado na urina de indivíduos do grupo controlo (CON), indivíduos com DP em estágio inicial (EPD), indivíduos com DP em estágio intermédio (MPD) e indivíduos com DP em estágio avançado (APD) da doença (128). (A) - leucina; (B) – isoleucina; (C) - glicina; (D) - cortisol; E - dihidrocortisol; (F) - quinurenina; (G) - fenilalanina; (F) - acetilfenilalanina. O asterisco (*) identifica as alterações que são estatisticamente significativas ($p < 0.05$)

5.3 Cromatografia gasosa acoplada à espetrometria de massa

Neste subcapítulo será abordada a GC-MS como uma técnica analítica usada na análise metabolómica. A GC-MS é considerada uma técnica versátil, graças à sua excelente capacidade de separação e também à sua seletividade, reprodutibilidade e sensibilidade (158,159). É uma técnica que recorre ao calor e à ionização dos compostos (ionização recorrendo ao bombardeamento por eletrões ou ionização química recorrendo a um gás) para a separação destes, com a finalidade de serem identificados e quantificados (159,160). O facto de existirem várias bases de dados de metabolitos correspondentes à GC-MS baseada em bombardeamento por eletrões, faz com que seja a técnica escolhida por vários investigadores para estudos de metabolómica (160).

A técnica GC-MS apresenta algumas vantagens: 1) é fácil prever e identificar os picos resultantes após a sua utilização; 2) tem baixos custos; 3) tem uma utilização fácil, quando os compostos são voláteis e termoestáveis (resistentes a temperaturas elevadas); 4) não existe o fenómeno de supressão iónica que é observado na LC-MS (158,159).

No entanto, também apresenta algumas desvantagens: 1) alguns compostos, nomeadamente, os pouco voláteis, termolábeis (sensíveis ao calor com conseqüente deterioração) e polares, têm de ser alterados quimicamente (derivatização) para serem melhor detetados, implicando assim a introdução de mais etapas no procedimento experimental e mais tempo; 2) apenas moléculas de peso molecular baixo podem ser separadas e identificadas; 3) o uso da técnica de derivatização poderá implicar um aumento do sinal que tornará ocultos ou “escondidos” os outros sinais no cromatograma; 4) é uma técnica destrutiva (159–163).

Serão apresentados abaixo os estudos feitos em indivíduos com DP recorrendo à GC-MS para a deteção de metabolitos em amostras de sangue total, plasma, soro, CSF e urina e como esta deteção e também a quantificação poderá auxiliar no diagnóstico da DP.

5.3.1 Sangue total e plasma/soro

Um estudo feito por Glaab et al. (2019) analisou amostras de plasma de indivíduos com DP e de grupo controlo e foram encontrados alguns metabolitos alterados quando estes dois grupos foram comparados (164). Foram encontradas alterações nos níveis dos seguintes metabolitos: ureia, ácido hexadecanóico e ácido dodecanóico. Neste estudo também encontraram dois metabolitos que não foram previamente documentados e que foram designados como metabolito RI1446 e RI1050, encontrando-se estes abundantes em indivíduos com DP.

Relativamente à ureia, os seus níveis estavam elevados em plasma de indivíduos com DP quando comparados ao grupo controlo. A ureia é o produto final do ciclo da ureia que tem como finalidade metabolizar produtos contendo azoto, principalmente os aminoácidos, com conseqüente formação e excreção de ureia (165). Excesso de ureia implica um distúrbio no ciclo da ureia e este distúrbio nos compostos presentes no ciclo foi demonstrado como sendo promotor do *stress oxidativo*, uma vez que alguns compostos envolvidos no ciclo atuam como antioxidantes (166).

Relativamente aos ácidos hexadecanóico e dodecanóico, estes são ácidos gordos e encontravam-se em níveis elevados no plasma de indivíduos com DP. O aumento destes ácidos gordos no sangue poderá ser devido ao aumento da conversão de lípidos em glicerol e ácidos gordos. A acumulação de ácidos gordos poderá estar associada a uma alteração no processo de oxidação dos ácidos gordos (164). O aumento da oxidação dos ácidos gordos poderá ser justificado pela tentativa do organismo contrabalançar a morte neuronal

progressiva, recorrendo à produção de agentes neuroprotetores, como o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF, do inglês *Brain Derived Neurotrophic Factor*) (138).

No que toca aos metabolitos RI1446 e RI1050 (164), não foi possível a sua identificação uma vez que, como não foram previamente documentados, não existem nas bases de dados digitais atuais. Assim, estudos posteriores terão de ser feitos para que as suas estruturas químicas possam ser identificadas.

Na Tabela 11 encontram-se resumidos os metabolitos identificados em plasma de indivíduos com DP por Glaab et al. (2019) bem como a variação destes comparativamente aos indivíduos controlo (164).

Tabela 11- Metabolitos identificados em plasma de indivíduos com DP por Glaab et al. (2019) e a sua variação comparativamente aos indivíduos controlo (164).

Metabolitos identificados no plasma	Alterações detetadas em doentes de Parkinson relativamente ao grupo controlo (↑-aumento;↓- diminuição)
Ácido dodecanóico	↑
Ácido hexadecanóico	↑
RI1050	↑
RI1446	↑
Ureia	↑

Outro estudo feito por Troisi et al. (2019) analisou amostras de sangue total de indivíduos com DP e do grupo controlo e detetaram alterações em determinados metabolitos, particularmente na leucina, ácido glutárico, ácido nicotínico e ácido butírico (167).

A leucina encontrava-se em níveis elevados no sangue de doentes de Parkinson quando comparados ao grupo controlo. Como foi referido, a leucina é um aminoácido ramificado, sendo importante para síntese de proteínas e produção de energia (123). No entanto Troisi et al. (2019) também mencionou a relação entre o aumento dos níveis deste aminoácido e a promoção da agregação de proteínas, como a α -sinucleína (167). Um aumento dos níveis de leucina promove a ativação de mTORC1 (do inglês, *mammalian Target Of Rapamycin Complex 1*), sendo este responsável pela autofagia (maior ativação de mTORC1 resulta numa menor autofagia) (168). Um artigo de revisão feito por Lan et al. (2016) compilou

vários estudos sobre o efeito da ativação deste complexo na DP, sugerindo que a sua ativação poderá promover a acumulação de α -sinucleína nos neurónios (169).

Os níveis de ácido glutárico, treitol, ácido esteárico, ácido nicotínico e ácido butírico também estavam alterados.

Relativamente ao ácido butírico, os estudos feitos em relação a este ácido gordo de cadeia curta são controversos (167). Sharma et al. (2015) demonstrou que o ácido butírico apresentava efeitos benéficos a nível motor e também aumentava os níveis de dopamina no corpo estriado após ser administrado a ratos com parkinsonismo induzido (170). Também Laurent et al. (2013) demonstrou que a administração de ácido butírico num modelo parkinsoniano da *Drosophila* demonstrava efeitos benéficos a nível motor (171). No entanto, outros estudos demonstraram efeitos contrários do ácido butírico. Por exemplo, Sampson (2016) demonstrou que os ácidos gordos de cadeia curta (como o ácido butírico) promovem a neuroinflamação mediada por α -sinucleína, sendo esses ácidos gordos considerados suficientes para promover défices motores (172).

A Tabela 12 resume os metabolitos identificados em sangue total de indivíduos com DP por Troisi et al. (2019) bem como a variação destes comparativamente aos indivíduos controlo (167).

Tabela 12- Metabolitos identificados em sangue total de indivíduos com DP por Troisi et al. (2019) e variação destes comparativamente aos indivíduos controlo (167). N.E- não especificado pelo autor

Metabolitos identificados em sangue total	Alterações detetadas em doentes de Parkinson relativamente ao grupo controlo (↑-aumento; ↓- diminuição)
Ácido butírico	↑
Ácido esteárico	N.E
Ácido glutárico	N.E
Ácido nicotínico	↑
Leucina	↑
Treitol	N.E

5.3.2 Líquido Cefalorraquidiano

Relativamente ao CSF, Trupp et al. (2014) identificou, em doentes de Parkinson, uma diminuição estatisticamente significativa nos níveis dos seguintes metabolitos: ácido 3-hidroxisovalérico, triptofano, creatina, xilitol, arabinose e fucose (92).

Como foi acima mencionado, a diminuição dos níveis de ácido 3-hidroxisovalérico poderá estar interligado com a degradação da tirosina e também da leucina (173).

Relativamente ao triptofano, também foi previamente mencionado que o distúrbio na sua via metabólica poderá refletir/causar *stress* oxidativo devido aos seus metabolitos neurotóxicos (156). Assim, menores níveis de triptofano no CSF poderão implicar maior degradação deste com conseqüente aumento dos níveis desses metabolitos.

Relativamente à creatina, os seus níveis diminuídos também poderão ter origem num distúrbio do seu metabolismo.

Por fim, os níveis diminuídos dos açúcares xilitol, arabinose e fucose poderão implicar uma via energética alternativa, uma vez que a via preferencial de obtenção de energia neuronal é a utilização da glucose através da via dos fosfatos de pentose (174).

A Tabela 13 resume os metabolitos identificados em CSF de indivíduos com DP por Trupp et al. (2014) bem como a variação destes comparativamente aos indivíduos controlo (92).

Tabela 13-Metabolitos alterados no CSF de doentes Parkinson, relativamente a indivíduos controlo, num estudo feito por Trupp et al. (2014) (92).

Metabolitos identificados em sangue total	Alterações detetadas em doentes de Parkinson relativamente ao grupo controlo (↑-aumento;↓- diminuição)
Ácido 3-hidroxisovalérico	↓
Arabinose	↓
Creatinina	↓
Fucose	↓
Triptofano	↓
Xilitol	↓

5.3.3 Urina

Como foi descrito na secção 5.3.2, nesta secção será abordado o mesmo estudo conduzido por Luan et al. (2015) e será feita a análise apenas dos metabolitos detetados utilizando a técnica GC-MS (128).

Os metabolitos detetados e alterados na urina dos indivíduos com DP utilizando a técnica GC-MS são: a leucina, isoleucina, glicina (e derivados) e fenilalanina.

Relativamente aos aminoácidos de cadeia ramificada (leucina e isoleucina), eles são importantes para a síntese de proteínas, síntese do neurotransmissor glutamato e produção de energia (123). Neste estudo, foi possível estabelecer uma correlação entre as diferentes taxas de variação na concentração de aminoácidos de cadeia ramificada na urina de indivíduos com DP com os diferentes estágios da doença, em que estágios mais avançados apresentavam maiores variações (128).

O aumento da excreção na urina destes aminoácidos poderá refletir uma baixa utilização dos mesmos na síntese de glutamato no cérebro e também a nível do músculo esquelético. Assim, sintomas motores como perda de massa muscular e espasmos podem estar associados a um défice de glutamato no músculo (175).

No que toca à glicina e aos seus derivados, a furoilglicina, tiglilglicina, hexanoilglicina, foram detetadas concentrações elevadas na urina de indivíduos com DP quando comparados ao grupo controlo (128). Também foi observado que a furoilglicina e a tiglilglicina estavam elevadas em indivíduos com DP num estágio inicial da doença. Hernandez et al. (2007) fez um estudo em ratos e demonstrou que a glicina promove a libertação de acetilcolina do corpo estriado (176). Portanto, estudos posteriores terão de ser feitos para compreender o mecanismo responsável pelo aumento da concentração de glicina.

A Tabela 14 resume os metabolitos identificados em urina de indivíduos com DP, por Luan et al. (2015), bem como a variação destes comparativamente aos indivíduos controlo (128).

Tabela 14- Metabolitos identificados em urina de indivíduos com DP, por Luan et al. (2015), e a sua variação comparativamente aos indivíduos controlo (128).

Metabolitos identificados na urina	Alterações detetadas em doentes de Parkinson relativamente ao grupo controlo (↑-aumento;↓- diminuição)
Fenilalanina	↑
Furoilglicina	↑
Glicina	↑
Hexanoilglicina	↑
Isoleucina	↑
Leucina	↑
Tigililglicina	↑

5.4 Resumo das alterações no metaboloma de fluidos biológicos de doentes de Parkinson, detetadas por NMR, LC-MS e GC-MS

Neste capítulo serão resumidos, sob a forma de tabela (Tabela 15), todos os metabolitos detetados por NMR, LC-MS e GC-MS nas três diferentes amostras biológicas, sangue (sangue total, plasma ou soro), CSF e urina, em doentes de Parkinson. Também estarão resumidas as alterações detetadas na concentração dos metabolitos e respetiva interpretação/implicação patofisiológica.

Tabela 15- Metabolitos detetados por NMR, LC-MS e GC-MS em sangue (sangue total, plasma ou soro), CSF e urina de doentes de Parkinson. Também se resumem as alterações detetadas na concentração dos metabolitos bem como a interpretação/implicação patofisiológica referida pelos autores dos diferentes estudos relativamente a essas alterações. N.E- não especificado pelo autor

Metabolitos identificados	Técnica analítica utilizada e alterações detetadas (↑ - aumento; ↓ - diminuição)			Fluido biológico	Interpretação / implicação patofisiológica	Referências
	NMR	LC-MS	GC-MS			
Acetato	↓/↑ ^a			plasma/ soro ^a	Desregulação do ciclo de Krebs	(107,112)
Acetil-carnitinas		↑		Urina	Disfunção mitocondrial	(151)
Acetilfenilalanina		↑		Urina	Distúrbio na via metabólica da fenilalanina	(128)
Ácido araquidónico		↓		plasma	Disfunção do metabolismo dos ácidos gordos	(137)
Ácidos biliares		↑		plasma	Desregulação das hormonas esteróides	(177)
Ácido butírico			↑	sangue total	Mecanismo compensatório para diminuição dos efeitos motores	(167)
Ácido dodecanóico			↑	Plasma	Neuroproteção	(164)
Ácido esteárico			N.E	Sangue total	N.E	(167)
Ácido glutárico			N.E	Sangue total	N.E	(167)
Ácido hexadecanóico			↑	Plasma	Neuroproteção	(164)
Ácido hidroxiantranílico		↑		Urina	Distúrbio na via metabólica do triptofano e disfunção mitocondrial	(151)
Ácido 3-hidroxisovalérico					Distúrbio no metabolismo da tirosina	(92)
Ácido 3-hidroxisovalérico	↓		↓	CSF	Distúrbios no metabolismo da leucina/tirosina	(121)
Ácido 2-octenóico		↑		Plasma	Disfunção mitocondrial	(38)
Ácido indolelático		↓		Plasma	Distúrbio na via metabólica do triptofano	(137)
Ácido linoleico		↓		Plasma	Metabolismo dos ácidos gordos poli-insaturados	(137)

Tabela 15- Metabolitos detetados por NMR, LC-MS e GC-MS em sangue (sangue total, plasma ou soro), CSF e urina de doentes de Parkinson. (cont.)

	Técnica analítica utilizada e alterações detetadas (↑ - aumento; ↓ - diminuição)			Fluido biológico	Interpretação / implicação patofisiológica	Referências
	NMR	LC-MS	GC-MS			
Ácido linolénico		↓		Plasma	Distúrbio no metabolismo dos ácidos gordos poli-insaturados	(137)
Ácido nicotínico			↑	Sangue total	N.E	(167)
Ácido valérico		↓		Plasma	Disfunção mitocondrial	(38)
Ácido vaniláctico		↑		Plasma	Aumento da fenilalanina	(38)
Ácido xanturético		↑		Urina	Distúrbio na via metabólica do triptofano e disfunção mitocondrial	(151)
Alanina	↑/↓ ^b			soro/CSF ^b	Distúrbios energéticos	(109,113,121)
Arabinose			↓	CSF	Distúrbio na utilização da glucose como fonte de energia	(92)
Carnitina		↓		Plasma	Disfunção mitocondrial	(38)
Citrato	↑/↓ ^c			Plasma/soro ^c	Distúrbio no ciclo de Krebs	(107,109,112)
Cortisol		↑		Urina	Stress oxidativo/distúrbios na esteroidogénese	(128,151)
Creatina			↓	CSF	Distúrbio no metabolismo da creatina	(92)
Creatinina			↓	CSF	Distúrbios energéticos	(92)
11-deoxicortisol		↑		Urina	Stress oxidativo/distúrbios na esteroidogénese	(151)
21-deoxicortisol		↑		Urina	Stress oxidativo/distúrbios na esteroidogénese	(128,151)
Dihidro cortisol		↑		Urina	Stress oxidativo/distúrbios na esteroidogénese	(128)
Fenilacetil-glutamina		↑		Plasma	Distúrbio no mecanismo proteolítico	(137)

Tabela 15- Metabolitos detetados por NMR, LC-MS e GC-MS em sangue (sangue total, plasma ou soro), CSF e urina de doentes de Parkinson. (cont.)

Metabolitos identificados	Técnica analítica utilizada e alterações detetadas (↑ - aumento; ↓ - diminuição)			Fluido biológico	Interpretação / implicação patofisiológica	Referências
	NMR	LC-MS	GC-MS			
Fenilalanina	↑		↑	Plasma/soro/urina	Distúrbios na via metabólica da fenilalanina	(38,112,124,128)
Fucose			↓	CSF	Distúrbio na utilização da glucose como fonte de energia	(92)
Furoilglicina			↑	Urina	Mecanismo compensatório para a promoção da libertação da acetilcolina	(128)
Glicina			↑	Urina	Mecanismo compensatório para a promoção da libertação da acetilcolina	(128)
Glucose	↑			Soro/CSF	Distúrbios energéticos	(109,112,121)
Glutamato	↑/↓ ^d			Soro	Via compensatória para produção de energia/distúrbios associados à neurotransmissão	(109,112)
Glutamina	↑			Soro	Distúrbios associados à neurotransmissão	(112)
Hexanoilglicina			↑	Urina	Mecanismo compensatório para a promoção da libertação de acetilcolina	(128)
β-hidroxibutirato	↑			Urina	Suprimir deficit energético	(124)
Hidroxiprogesterona		↑		Urina	Stress oxidativo/distúrbios na esteroidogénese	(128)
Trans-4-hidroxirolina		↑		CSF	Stress oxidativo	(144)
Histidina	↑			Soro	Mecanismo compensatório para neutralizar radicais livres	(109,112)
Isoleucina	↑		↑	Soro/CSF/Urina	Disfunção mitocondrial/reduzida utilização para a síntese de glutamato	(109,121,124,128)

Tabela 15- Metabolitos detetados por NMR, LC-MS e GC-MS em sangue (sangue total, plasma ou soro), CSF e urina de doentes de Parkinson. (cont.)

Metabolitos identificados	Técnica analítica utilizada e alterações detetadas (↑ - aumento; ↓ - diminuição)			Fluido biológico	Interpretação / implicação patofisiológica	Referências
	NMR	LC-MS	GC-MS			
Lactato	↑			Soro	Via compensatória para produção de energia	(109)
Leucina	↑		↑	Sangue total/ CSF/urina	Baixa utilização para a síntese de glutamato/promoção da agregação da α -sinucleína	(121,128,167)
Malato	↓			Plasma	Desregulação ciclo de Krebs	(107)
Manose	↓			CSF	Distúrbio no metabolismo da glucose	(113,121)
Mio-inositol	↑			Plasma	Diminuição da condução do nervo ciático	(107)
Ornitina	↑			Urina	Disfunção mitocondrial	(124)
Piruvato	↑			Plasma	Desregulação do ciclo de Krebs	(107)
Prolina		↓		CSF	Stress oxidativo	(144)
Putrescina		↑		CSF	Promove agregação de α -sinucleína	(144)
Quinurenina		↑		Urina	Distúrbio na via metabólica do triptofano e disfunção mitocondrial	(128,151)
RI1050			↑	Plasma	N.E	(164)
RI1446			↑	Plasma	N.E	(164)
Sorbitol	↑			Plasma	Stress oxidativo	(107)
Succinato	↓			Plasma	Desregulação do ciclo de Krebs	(107)
Testosterona	↓			Soro	Distúrbios energéticos	(112)
Tigililglicina			↑	Urina	Mecanismo compensatório para a promoção da libertação da acetilcolina	(128)

Tabela 15- Metabolitos detetados por NMR, LC-MS e GC-MS em sangue (sangue total, plasma ou soro), CSF e urina de doentes de Parkinson. (cont.)

Metabolitos identificados	Técnica analítica utilizada e alterações detetadas (↑ - aumento; ↓ - diminuição)			Fluido biológico	Interpretação / implicação patofisiológica	Referências
	NMR	LC-MS	GC-MS			
Tirosina	↑	↑		Soro/CSF	Disfunção mitocondrial/mecanismo compensatório para maior síntese de catecolaminas	(112,144)
Treitól			N.E	Sangue total	N.E	(167)
Triptofano			↓	CSF	Promove stress oxidativo	(92)
Ureia			↑	Plasma	Distúrbio no ciclo da ureia	(164)
Valina	↑			Soro	Mecanismo compensatório para a produção de dopamina e glutamato	(109)
Xilitol			↓	CSF	Distúrbio na utilização da glucose como fonte de energia	(92)

Notas:

- a- No estudo realizado por Toczylowska et al. (2020) (112) foi utilizado soro e os doentes de Parkinson apresentavam níveis elevados de acetato e tinham as seguintes características: média da idade = 62.8 ± 7.1 anos, duração média da doença = 10.5 ± 4.2 anos, duração média de tratamento com agentes dopaminérgicos = 9.1 ± 3.7 anos. No estudo conduzido por Ahmed et al. (2009) (107) foi utilizado plasma e os doentes de Parkinson apresentavam níveis reduzidos de acetato e tinham as seguintes características: sobre-expressão e sub-expressão de determinados genes responsáveis pela transcrição do piruvato, ausência de farmacoterapia na altura da investigação
- b- No estudo realizado por Babu et al. (2018) (109) foi utilizado soro e os doentes de Parkinson apresentavam níveis elevados de alanina e tinham a média de idade = 58 anos e nacionalidade indiana. No estudo conduzido por Öhman et al. (2015) (113) foi utilizado CSF, os doentes de Parkinson apresentavam níveis reduzidos de alanina e tinham a média de idade = 63 anos, média da duração de doença = 20.8 meses e 6 dos 10 doentes já faziam farmacoterapia dopaminérgica no momento da colheita.
- c- No estudo realizado por Ahmed et al. (2009) (107) foi utilizado plasma e os doentes de Parkinson apresentavam níveis reduzidos de citrato e tinham as seguintes características: sobre-expressão e sub-expressão de determinados genes responsáveis pela transcrição do piruvato, ausência de farmacoterapia na altura da investigação. No estudo conduzido por Babu et al. (2018) (109) foi utilizado soro e os doentes de Parkinson apresentavam níveis elevados de alanina e tinham a média de idade = 58 anos e nacionalidade indiana.
- d- No estudo realizado por Babu et al. (2018) (109) foi utilizado soro e os doentes de Parkinson apresentavam níveis elevados de glutamato e tinham a média de idade = 58 anos e nacionalidade indiana. No estudo conduzido por Toczylowska et al. (2020) (112) foi utilizado soro e os doentes de Parkinson apresentavam níveis reduzidos de glutamato e tinham as seguintes características: média da idade = 62.8 ± 7.1 anos, duração média da doença = 10.5 ± 4.2 anos, duração média de tratamento com agentes dopaminérgicos = 9.1 ± 3.7 anos.

6. Conclusão

Com esta monografia foi possível fazer uma revisão bibliográfica acerca da DP, sendo esta uma doença heterogênea uma vez que não só a α -sinucleína poderá contribuir para o seu aparecimento, como também poderão existir várias vias metabólicas afetadas, cuja desregulação poderá ter efeitos neurotóxicos e desencadear a doença.

Com o uso da metabolômica é possível decifrar que vias metabólicas estão desreguladas na DP e quantificar os metabolitos que estão alterados. Assim, esta revisão também realçou a importância e utilidade da metabolômica uma vez que permite obter uma “impressão digital” do metabolismo, num determinado momento e em determinadas condições. Futuramente, poderá ser usada para diagnosticar um indivíduo com DP ou permitir uma melhor compreensão dos mecanismos patofisiológicos subjacentes à DP, sendo apenas necessário, para tal, uma amostra biológica como a urina, o CSF, o plasma/soro ou o sangue total.

É de salientar que a maioria dos metabolitos identificados e aqui descritos já são conhecidos pela comunidade científica; no entanto, devido à complexidade das vias metabólicas em que estão envolvidos, é desconhecido o efeito global das alterações em diferentes vias metabólicas.

Concluindo, a identificação de apenas uma molécula para diagnosticar a DP aparenta ser difícil e, de certo modo, idealista, sendo cada vez mais consensual que se trata de uma doença com origem multifactorial. No entanto é possível utilizar as alterações no perfil metabólico, que refletem alterações em diferentes vias metabólicas, para melhor compreender os processos patofisiológicos desta doença e auxiliar no diagnóstico da mesma.

Futuros projetos terão de ser desenvolvidos para aprofundar este tema e, se possível, encontrar um perfil metabolômico característico que possa ser usado, em conjunto com os sinais e sintomas clínicos, para avaliar a progressão da doença, a resposta a uma determinada terapia e, por fim, auxiliar no diagnóstico da DP.

7. Referências

1. DeMaagd G, Philip A. Parkinson's Disease and Its Management: Part 1: Disease Entity, Risk Factors, Pathophysiology, Clinical Presentation, and Diagnosis. *P T*. 2015;40(8):504–532.
2. Tysnes O-B, Storstein A. Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neural Transm*. 2017;124(8):901–905. DOI:10.1007/s00702-017-1686-y
3. Sveinbjornsdottir S. The clinical symptoms of Parkinson's disease. *J Neurochem*. 2016;139:318–324. DOI:10.1111/jnc.13691
4. Cabreira V, Massano J. Doença de Parkinson: Revisão Clínica e Atualização. *Acta Med Port*. 2019;32(10):661–670. DOI:10.20344/amp.11978
5. Duan W, Ladenheim B, Cutler RG, Kruman II, Cadet JL, Mattson MP. Dietary folate deficiency and elevated homocysteine levels endanger dopaminergic neurons in models of Parkinson's disease. *J Neurochem*. 2002;80(1):101–110. DOI:10.1046/j.0022-3042.2001.00676.x
6. Huang TT, Hao DL, Wu BN, Mao LL, Zhang J. Uric acid demonstrates neuroprotective effect on Parkinson's disease mice through Nrf2-ARE signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017;493(4):1443–1449. DOI:10.1016/j.bbrc.2017.10.004
7. Sikorska M, Lanthier P, Miller H, Beyers M, Sodja C, Zurakowski B, et al. Nanomicellar formulation of coenzyme Q10 (Ubisol-Q10) effectively blocks ongoing neurodegeneration in the mouse 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine model: potential use as an adjuvant treatment in Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2014;35(10):2329–2346. DOI:10.1016/j.neurobiolaging.2014.03.032
8. Cankaya S, Cankaya B, Kilic U, Kilic E, Yulug B. The therapeutic role of minocycline in Parkinson's disease. *Drugs Context*. 2019;8:1–14. DOI:10.7573/dic.212553
9. Bondarenko O, Saarma M. Neurotrophic Factors in Parkinson's Disease: Clinical Trials, Open Challenges and Nanoparticle-Mediated Delivery to the Brain. *Front Cell Neurosci*. 2021;15:1–15. DOI:10.3389/fncel.2021.682597
10. El-Agnaf OMA, Salem SA, Paleologou KE, Curran MD, Gibson MJ, Court JA, et al.

- Detection of oligomeric forms of α -synuclein protein in human plasma as a potential biomarker for Parkinson's disease. *FASEB J.* 2006;20(3):419–425. DOI:10.1096/fj.03-1449com
11. Isobe C, Abe T, Terayama Y. Levels of reduced and oxidized coenzymeQ-10 and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in the cerebrospinal fluid of patients with living Parkinson's disease demonstrate that mitochondrial oxidative damage and/or oxidative DNA damage contributes to the neurodegenera. *Neurosci Lett.* 2010;469(1):159–163. DOI:10.1016/j.neulet.2009.11.065
 12. Shulaev V. Metabolomics technology and bioinformatics. *Brief Bioinform.* 2006;7(2):128–139. DOI:10.1093/bib/bbl012
 13. Morgan JC, Mehta SH, Sethi KD. Biomarkers in Parkinson's Disease. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2010;10(6):423–430. DOI:10.1007/s11910-010-0144-0
 14. Ferreira JJ, Gonçalves N, Valadas A, Januário C, Silva MR, Nogueira L, et al. Prevalence of Parkinson's disease: a population-based study in Portugal. *Eur J Neurol.* 2017;24(5):748–750. DOI:10.1111/ene.13273
 15. Mazzoni P, Shabbott B, Cortes JC. Motor Control Abnormalities in Parkinson's Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;2(6):1–13. DOI:10.1101/cshperspect.a009282
 16. Heusinkveld LE, Hacker ML, Turchan M, Davis TL, Charles D. Impact of Tremor on Patients With Early Stage Parkinson's Disease. *Front Neurol.* 2018;9(628):1–5. DOI:10.3389/fneur.2018.00628
 17. Rana AQ, Böke BN, Qureshi A-RM, Rana MA, Rahman M. Prevalence of essential tremor in an idiopathic Parkinson's disease patient population. *Int J Neurosci.* 2015;125(4):253–255. DOI:10.3109/00207454.2014.929128
 18. Chen W, Hopfner F, Becktepe JS, Deuschl G. Rest tremor revisited: Parkinson's disease and other disorders. *Transl Neurodegener.* 2017;6(1):1–8. DOI:10.1186/s40035-017-0086-4
 19. Baradaran N, Tan SN, Liu A, Ashoori A, Palmer SJ, Wang ZJ, et al. Parkinson's Disease Rigidity: Relation to Brain Connectivity and Motor Performance. *Front Neurol.* 2013;4(67):1–9. DOI:10.3389/fneur.2013.00067

20. Berardelli A. Pathophysiology of bradykinesia in Parkinson's disease. *Brain*. 2001;124(11):2131–2146. DOI:10.1093/brain/124.11.2131
21. Poewe W. Non-motor symptoms in Parkinson's disease. *Eur J Neurol*. 2008;15(1):14–20. DOI:10.1111/j.1468-1331.2008.02056.x
22. Pfeiffer RF. Non-motor symptoms in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2016;22:119–122. DOI:10.1016/j.parkreldis.2015.09.004
23. Tan LCS. Mood disorders in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2012;18(1):74–76. DOI:10.1016/S1353-8020(11)70024-4
24. Schrag A. Quality of life and depression in Parkinson's disease. *J Neurol Sci*. 2006;248:151–157. DOI:10.1016/j.jns.2006.05.030
25. Landau S, Harris V, Burn DJ, Hindle J V., Hurt CS, Samuel M, et al. Anxiety and anxious-depression in Parkinson's disease over a 4-year period: a latent transition analysis. *Psychol Med*. 2016;46(3):657–667. DOI:10.1017/S0033291715002196
26. Pluck GC, Brown RG. Apathy in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2002;73(6):636–642. DOI:10.1136/jnnp.73.6.636
27. Dujardin K, Sockeel P, Devos D, Delliaux M, Krystkowiak P, Destée A, et al. Characteristics of apathy in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2007;22(6):778–784. DOI:10.1002/mds.21316
28. Kranick SM, Duda JE. Olfactory Dysfunction in Parkinson's Disease. *Neurosignals*. 2008;16(1):35–40. DOI:10.1159/000109757
29. Herting B, Schulze S, Reichmann H, Haehner A, Hummel T. A longitudinal study of olfactory function in patients with idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol*. 2008;255(3):367–370. DOI:10.1007/s00415-008-0665-5
30. Hawkes CH. Parkinson's disease and aging: Same or different process? *Mov Disord*. 2008;23(1):47–53. DOI:10.1002/mds.21766
31. Bohnen NI, Gedela S, Herath P, Constantine GM, Moore RY. Selective hyposmia in Parkinson disease: Association with hippocampal dopamine activity. *Neurosci Lett*. 2008;447(1):12–16. DOI:10.1016/j.neulet.2008.09.070

32. Postuma RB, Gagnon J-F, Bertrand J-A, Génier Marchand D, Montplaisir JY. Parkinson risk in idiopathic REM sleep behavior disorder. *Neurology*. 2015;84(11):1104–1113. DOI:10.1212/WNL.0000000000001364
33. Postuma RB, Gagnon JF, Vendette M, Charland K, Montplaisir J. REM sleep behaviour disorder in Parkinson's disease is associated with specific motor features. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008;79(10):1117–1121. DOI:10.1136/jnnp.2008.149195
34. Postuma RB, Montplaisir J, Lanfranchi P, Blais H, Rompré S, Colombo R, et al. Cardiac autonomic denervation in Parkinson's disease is linked to REM sleep behavior disorder. *Mov Disord*. 2011;26(8):1529–1533. DOI:10.1002/mds.23677
35. Emamzadeh FN, Surguchov A. Parkinson's Disease: Biomarkers, Treatment, and Risk Factors. *Front Neurosci*. 2018;12(612):1–14. DOI:10.3389/fnins.2018.00612
36. Balestrino R, Schapira AHV. Parkinson disease. *Eur J Neurol*. 2020;27(1):27–42. DOI:10.1111/ene.14108
37. Cools R. Role of Dopamine in the Motivational and Cognitive Control of Behavior. *Neurosci*. 2008;14(4):381–395. DOI:10.1177/1073858408317009
38. Zhao H, Wang C, Zhao N, Li W, Yang Z, Liu X, et al. Potential biomarkers of Parkinson's disease revealed by plasma metabolic profiling. *J Chromatogr B*. 2018;1081–1082:101–108. DOI:10.1016/j.jchromb.2018.01.025
39. Singleton AB, Farrer MJ, Bonifati V. The genetics of Parkinson's disease: Progress and therapeutic implications. *Movement Disorders*, Vol. 28. 2013. p. 14–23. DOI:10.1002/mds.25249
40. Bandres-Ciga S, Diez-Fairen M, Kim JJ, Singleton AB. Genetics of Parkinson's disease: An introspection of its journey towards precision medicine. *Neurobiol Dis*. 2020;137:104782. DOI:10.1016/j.nbd.2020.104782
41. Nuytemans K, Theuns J, Cruts M, Van Broeckhoven C. Genetic etiology of Parkinson disease associated with mutations in the SNCA, PARK2, PINK1, PARK7, and LRRK2 genes: a mutation update. *Hum Mutat*. 2010;31(7):763–780. DOI:10.1002/humu.21277

42. Van Den Eeden SK. Incidence of Parkinson's Disease: Variation by Age, Gender, and Race/Ethnicity. *Am J Epidemiol.* 2003;157(11):1015–1022. DOI:10.1093/aje/kwgo68
43. Kamel F, Tanner CM, Umbach DM, Hoppin JA, Alavanja MCR, Blair A, et al. Pesticide exposure and self-reported Parkinson's disease in the agricultural health study. *Am J Epidemiol.* 2007;165(4):364–374. DOI:10.1093/aje/kwko24
44. Benedetti MD, Maraganore DM, Bower JH, McDonnell SK, Peterson BJ, Ahlskog JE, et al. Hysterectomy, menopause, and estrogen use preceding Parkinson's disease: An exploratory case-control study. *Mov Disord.* 2001;16(5):830–837. DOI:10.1002/mds.1170
45. Beyer K. α -Synuclein structure, posttranslational modification and alternative splicing as aggregation enhancers. *Acta Neuropathol.* 2006;112(3):237–251. DOI:10.1007/s00401-006-0104-6
46. Taguchi K, Watanabe Y, Tsujimura A, Tanaka M. Expression of α -synuclein is regulated in a neuronal cell type-dependent manner. *Anat Sci Int.* 2019;94(1):11–22. DOI:10.1007/s12565-018-0464-8
47. Murphy DD, Rueter SM, Trojanowski JQ, Lee VM-Y. Synucleins Are Developmentally Expressed, and α -Synuclein Regulates the Size of the Presynaptic Vesicular Pool in Primary Hippocampal Neurons. *J Neurosci.* 2000;20(9):3214–3220. DOI:10.1523/JNEUROSCI.20-09-03214.2000
48. Mavroeidi P, Xilouri M. Neurons and Glia Interplay in α -Synucleinopathies. *Int J Mol Sci.* 2021;22(9):1–53. DOI:10.3390/ijms22094994
49. Goedert M, Jakes R, Spillantini MG. The Synucleinopathies: Twenty Years On. *J Parkinsons Dis.* 2017;7(1):51–69. DOI:10.3233/JPD-179005
50. Lei S, Powers R. NMR Metabolomics Analysis of Parkinson's Disease. *Curr Metabolomics.* 2013;1(3):191–209. DOI:10.2174/2213235X113019990004
51. Dias V, Junn E, Mouradian MM. The Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease. *J Parkinsons Dis.* 2013;3(4):461–491. DOI:10.3233/JPD-130230
52. Hirsch EC, Hunot S. Neuroinflammation in Parkinson's disease: a target for neuroprotection? *Lancet Neurol.* 2009;8(4):382–397. DOI:10.1016/S1474-4422(09)70062-6

53. Bhat AH, Dar KB, Anees S, Zargar MA, Masood A, Sofi MA, et al. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and neurodegenerative diseases; a mechanistic insight. *Biomed Pharmacother.* 2015;74:101–110. DOI:10.1016/j.biopha.2015.07.025
54. Moon HE, Paek SH. Mitochondrial Dysfunction in Parkinson's Disease. *Exp Neurobiol.* 2015;24(2):103–116. DOI:10.5607/en.2015.24.2.103
55. Meiser J, Weindl D, Hiller K. Complexity of dopamine metabolism. *Cell Commun Signal.* 2013;11(1):1–18. DOI:10.1186/1478-811X-11-34
56. Hwang O. Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease. *Exp Neurobiol.* 2013;22(1):11–17. DOI:10.5607/en.2013.22.1.11
57. Lotharius J. Impaired dopamine storage resulting from alpha-synuclein mutations may contribute to the pathogenesis of Parkinson's disease. *Hum Mol Genet.* 2002;11(20):2395–2407. DOI:10.1093/hmg/11.20.2395
58. DiSabato DJ, Quan N, Godbout JP. Neuroinflammation: the devil is in the details. *J Neurochem.* 2016;139(1):136–153. DOI:10.1111/jnc.13607
59. Pajares M, I. Rojo A, Manda G, Boscá L, Cuadrado A. Inflammation in Parkinson's Disease: Mechanisms and Therapeutic Implications. *Cells.* 2020;9(7):1–32. DOI:10.3390/cells9071687
60. Le W, Wu J, Tang Y. Protective Microglia and Their Regulation in Parkinson's Disease. *Front Mol Neurosci.* 2016;9:89. DOI:10.3389/fnmol.2016.00089
61. Saijo K, Glass CK. Microglial cell origin and phenotypes in health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(11):775–787. DOI:10.1038/nri3086
62. Stojkowska I, Wagner BM, Morrison BE. Parkinson's disease and enhanced inflammatory response. *Exp Biol Med.* 2015;240(11):1387–1395. DOI:10.1177/1535370215576313
63. Cheng C, Lau SKM, Doering LC. Astrocyte-secreted thrombospondin-1 modulates synapse and spine defects in the fragile X mouse model. *Mol Brain.* 2016;9(1):1–15. DOI:10.1186/s13041-016-0256-9
64. Sofroniew M V., Vinters H V. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol.* 2010;119(1):7–35. DOI:10.1007/s00401-009-0619-8

65. Song YJC, Halliday GM, Holton JL, Lashley T, O'Sullivan SS, McCann H, et al. Degeneration in Different Parkinsonian Syndromes Relates to Astrocyte Type and Astrocyte Protein Expression. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2009;68(10):1073–1083. DOI:10.1097/NEN.ob013e3181b666f1b
66. Bolaños JP. Bioenergetics and redox adaptations of astrocytes to neuronal activity. *J Neurochem.* 2016;139(2):115–125. DOI:10.1111/jnc.13486
67. Fakhoury M. Microglia and Astrocytes in Alzheimer's Disease: Implications for Therapy. *Curr Neuropharmacol.* 2018;16(5):508–518. DOI:10.2174/1570159X15666170720095240
68. Booth HDE, Hirst WD, Wade-Martins R. The Role of Astrocyte Dysfunction in Parkinson's Disease Pathogenesis. *Trends Neurosci.* 2017;40(6):358–370. DOI:10.1016/j.tins.2017.04.001
69. Lee H-J, Kim C, Lee S-J. Alpha-Synuclein Stimulation of Astrocytes: Potential Role for Neuroinflammation and Neuroprotection. *Oxid Med Cell Longev.* 2010;3(4):283–287. DOI:10.4161/oxim.3.4.12809
70. Rizek P, Kumar N, Jog MS. An update on the diagnosis and treatment of Parkinson disease. *Can Med Assoc J.* 2016;188(16):1157–1165. DOI:10.1503/cmaj.151179
71. AlMahadin G, Lotfi A, Zysk E, Siena FL, Carthy MM, Breedon P. Parkinson's disease: current assessment methods and wearable devices for evaluation of movement disorder motor symptoms - a patient and healthcare professional perspective. *BMC Neurol.* 2020;20(1):1–13. DOI:10.1186/s12883-020-01996-7
72. Goetz CG, Poewe W, Rascol O, Sampaio C, Stebbins GT, Counsell C, et al. Movement Disorder Society Task Force report on the Hoehn and Yahr staging scale: Status and recommendations The Movement Disorder Society Task Force on rating scales for Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2004;19(9):1020–1028. DOI:10.1002/mds.20213
73. Goetz CG, Tilley BC, Shaftman SR, Stebbins GT, Fahn S, Martinez-Martin P, et al. Movement Disorder Society-Sponsored Revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Scale presentation and clinimetric testing results. *Mov Disord.* 2008;23(15):2129–2170. DOI:10.1002/mds.22340

74. Pagano G, Niccolini F, Politis M. Imaging in Parkinson's disease. *Clin Med (Northfield Il)*. 2016;16(4):371–375. DOI:10.7861/clinmedicine.16-4-371
75. Walter U, Dressler D, Wolters A, Wittstock M, Greim B, Benecke R. Sonographic discrimination of dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease with dementia. *J Neurol*. 2006;253(4):448–454. DOI:10.1007/s00415-005-0023-9
76. Thobois S, Guillouet S, Broussolle E. Contributions of PET and SPECT to the understanding of the pathophysiology of Parkinson's disease. *Neurophysiol Clin Neurophysiol*. 2001;31(5):321–340. DOI:10.1016/S0987-7053(01)00273-8
77. Sawle G V. Separating Parkinson's disease from normality. Discriminant function analysis of fluorodopa F 18 positron emission tomography data. *Arch Neurol*. 1994;51:237–243. DOI:10.1001/archneur.1994.00540150027011
78. Ibrahim N, Kusmirek J, Struck AF, Floberg JM, Perlman SB, Gallagher C, et al. The sensitivity and specificity of F-DOPA PET in a movement disorder clinic. *Am J Nucl Med Mol Imaging*. 2016;6(1):102–109.
79. Eerola J. How useful is [¹²³I] -CIT SPECT in clinical practice? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005;76(9):1211–1216. DOI:10.1136/jnnp.2004.045237
80. Abbasi Gharibkandi N, Hosseinimehr SJ. Radiotracers for imaging of Parkinson's disease. *Eur J Med Chem*. 2019;166:75–89. DOI:10.1016/j.ejmech.2019.01.029
81. Jennings DL, Seibyl JP, Oakes D, Eberly S, Murphy J, Marek K. (¹²³I) β-CIT and Single-Photon Emission Computed Tomographic Imaging vs Clinical Evaluation in Parkinsonian Syndrome. *Arch Neurol*. 2004;61(8):1224–1229. DOI:10.1001/archneur.61.8.1224
82. Brücke T, Djamshidian S, Bencsits G, Pirker W, Asenbaum S, Podreka I. SPECT and PET imaging of the dopaminergic system in Parkinson's disease. *J Neurol*. 2000;247(4):2–7. DOI:10.1007/PL00007769
83. Tondo G, Esposito M, Dervenoulas G, Wilson H, Politis M, Pagano G. Hybrid PET-MRI Applications in Movement Disorders. In: *International Review of Neurobiology*. 1st ed. Elsevier Inc.; 2019. DOI:10.1016/bs.irn.2018.10.003
84. Eshuis SA, Jager PL, Maguire RP, Jonkman S, Dierckx RA, Leenders KL. Direct comparison of FP-CIT SPECT and F-DOPA PET in patients with Parkinson's disease and healthy controls. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2009;36(3):454–462.

DOI:10.1007/s00259-008-0989-5

85. Pavese N, Rivero-Bosch M, Lewis SJ, Whone AL, Brooks DJ. Progression of monoaminergic dysfunction in Parkinson's disease: A longitudinal 18F-dopa PET study. *Neuroimage*. 2011;56(3):1463–1468. DOI:10.1016/j.neuroimage.2011.03.012
86. Becker G, Seufert J, Bogdahn U, Reichmann H, Reiners K. Degeneration of substantia nigra in chronic Parkinson's disease visualized by transcranial color-coded real-time sonography. *Neurology*. 1995;45(1):182–184. DOI:10.1212/WNL.45.1.182
87. Berg D, Hochstrasser H, Schweitzer KJ, Riess O. Disturbance of iron metabolism in Parkinson's disease — ultrasonography as a biomarker. *Neurotox Res*. 2006;9(1):1–13. DOI:10.1007/BF03033302
88. Berg D, Merz B, Reiners K, Naumann M, Becker G. Five-year follow-up study of hyperechogenicity of the substantia nigra in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2005;20(3):383–385. DOI:10.1002/mds.20311
89. Zhu Y, Wang B, Tao K, Yang H, Wang Y, Zhou T, et al. Iron accumulation and microglia activation contribute to substantia nigra hyperechogenicity in the 6-OHDA-induced rat model of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2017;36:76–82. DOI:10.1016/j.parkreldis.2017.01.003
90. Gasparoli E, Delibori D, Polesello G, Santelli L, Ermani M, Battistin L, et al. Clinical predictors in Parkinson's disease. *Neurol Sci*. 2002;23(2):77–78. DOI:10.1007/s100720200078
91. Roede JR, Uppal K, Park Y, Lee K, Tran V, Walker D, et al. Serum Metabolomics of Slow vs. Rapid Motor Progression Parkinson's Disease: a Pilot Study. *Cookson MR*, editor. *PLoS One*. 2013;8(10):1–11. DOI:10.1371/journal.pone.0077629
92. Trupp M, Jonsson P, Öhrfelt A, Zetterberg H, Obudulu O, Malm L, et al. Metabolite and Peptide Levels in Plasma and CSF Differentiating Healthy Controls from Patients with Newly Diagnosed Parkinson's Disease. *J Parkinsons Dis*. 2014;4(3):549–560. DOI:10.3233/JPD-140389
93. Clish CB. Metabolomics: an emerging but powerful tool for precision medicine. *Mol Case Stud*. 2015;1(1):1–6. DOI:10.1101/mcs.a000588

94. Gerszten RE, Wang TJ. The search for new cardiovascular biomarkers. *Nature*. 2008;451(7181):949–952. DOI:10.1038/nature06802
95. Stringer KA, McKay RT, Karnovsky A, Quémerais B, Lacy P. Metabolomics and Its Application to Acute Lung Diseases. *Front Immunol*. 2016;7(44):1–22. DOI:10.3389/fimmu.2016.00044
96. Chen Z-Z, Gerszten RE. Metabolomics and Proteomics in Type 2 Diabetes. *Circ Res*. 2020;126(11):1613–1627. DOI:10.1161/CIRCRESAHA.120.315898
97. Caudle WM, Bammler TK, Lin Y, Pan S, Zhang J. Using ‘omics’ to define pathogenesis and biomarkers of Parkinson’s disease. *Expert Rev Neurother*. 2010;10(6):925–942. DOI:10.1586/ern.10.54
98. Powers R. NMR metabolomics and drug discovery. *Magn Reson Chem*. 2009;47(1):2–11. DOI:10.1002/mrc.2461
99. Zhou B, Xiao JF, Tuli L, Ressom HW. LC-MS-based metabolomics. *Mol BioSyst*. 2012;8(2):470–481. DOI:10.1039/C1MB05350G
100. Fiehn O. Metabolomics by Gas Chromatography–Mass Spectrometry: Combined Targeted and Untargeted Profiling. *Curr Protoc Mol Biol*. 2016;114(1):30.4.1-30.4.32. DOI:10.1002/0471142727.mb3004s114
101. Worley B, Powers R. Multivariate Analysis in Metabolomics. *Curr Metabolomics*. 2012;1(1):92–107. DOI:10.2174/2213235X11301010092
102. Reo N V. NMR-based Metabolomics. *Drug Chem Toxicol*. 2002;25(4):375–382. DOI:10.1081/DCT-120014789
103. Markley JL, Brüschweiler R, Edison AS, Eghbalnia HR, Powers R, Raftery D, et al. The future of NMR-based metabolomics. *Curr Opin Biotechnol*. 2017;43:34–40. DOI:10.1016/j.copbio.2016.08.001
104. Lei S, Powers R. NMR Metabolomics Analysis of Parkinson’s Disease. *Curr Metabolomics*. 2013;1(3):191–209. DOI:10.2174/2213235X113019990004
105. Emwas AHM. The Strengths and Weaknesses of NMR Spectroscopy and Mass Spectrometry with Particular Focus on Metabolomics Research. In: Bjerrum JT, editor. *Methods in Molecular Biology*. New York, NY: Springer New York; 2015. p. 161–164. (Methods in Mol Biol; vol. 1277). DOI:10.1007/978-1-4939-2377-9

106. Mompeán M, Sánchez-Donoso RM, de la Hoz A, Saggiomo V, Velders AH, Gomez MV. Pushing nuclear magnetic resonance sensitivity limits with microfluidics and photo-chemically induced dynamic nuclear polarization. *Nat Commun.* 2018;9(1):1–8. DOI:10.1038/s41467-017-02575-0
107. Ahmed SS, Santosh W, Kumar S, Christlet HTT. Metabolic profiling of Parkinson's disease: evidence of biomarker from gene expression analysis and rapid neural network detection. *J Biomed Sci.* 2009;16(1):1–12. DOI:10.1186/1423-0127-16-63
108. Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: Linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol.* 2005;4(1):1–11. DOI:10.1186/1475-2840-4-5
109. Nagesh Babu G, Gupta M, Paliwal VK, Singh S, Chatterji T, Roy R. Serum metabolomics study in a group of Parkinson's disease patients from northern India. *Clin Chim Acta.* 2018;480:214–219. DOI:10.1016/j.cca.2018.02.022
110. Kori M, Aydın B, Unal S, Arga KY, Kazan D. Metabolic Biomarkers and Neurodegeneration: A Pathway Enrichment Analysis of Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, and Amyotrophic Lateral Sclerosis. *OMICS.* 2016;20(11):645–661. DOI:10.1089/omi.2016.0106
111. Fernández-Irigoyen J, Cartas-Cejudo P, Iruarrizaga-Lejarreta M, Santamaría E. Alteration in the Cerebrospinal Fluid Lipidome in Parkinson's Disease: A Post-Mortem Pilot Study. *Biomedicines.* 2021;9(5):1–20. DOI:10.3390/biomedicines9050491
112. Toczyłowska B, Zieminska E, Michałowska M, Chalimoniuk M, Fiszer U. Changes in the metabolic profiles of the serum and putamen in Parkinson's disease patients – In vitro and in vivo NMR spectroscopy studies. *Brain Res.* 2020;1748:1–9. DOI:10.1016/j.brainres.2020.147118
113. Öhman A, Forsgren L. NMR metabonomics of cerebrospinal fluid distinguishes between Parkinson's disease and controls. *Neurosci Lett.* 2015;594:36–39. DOI:10.1016/j.neulet.2015.03.051
114. Agren H, Niklasson F. Creatinine and creatine in CSF: indices of brain energy metabolism in depression. *J Neural Transm.* 1988;74(1):55–59. DOI:10.1007/BF01243575

115. Swahn C-G, Sedvall G. CSF creatinine in schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 1988;23(6):586–594. DOI:10.1016/0006-3223(88)90005-4
116. Nacul, de Barros, Kingdon, Cliff, Clark, Mudie, et al. Evidence of Clinical Pathology Abnormalities in People with Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS) from an Analytic Cross-Sectional Study. *Diagnostics*. 2019;9(2):1–16. DOI:10.3390/diagnostics9020041
117. Duran-Trio L, Fernandes-Pires G, Simicic D, Grosse J, Roux-Petronelli C, Bruce SJ, et al. A new rat model of creatine transporter deficiency reveals behavioral disorder and altered brain metabolism. *Sci Rep*. 2021;11(1):1–13. DOI:10.1038/s41598-020-80824-x
118. Tsacopoulos M, Magistretti P. Metabolic coupling between glia and neurons. *J Neurosci*. 1996;16(3):877–885. DOI:10.1523/JNEUROSCI.16-03-00877.1996
119. Mally J, Szalai G, Stone T. Changes in the concentration of amino acids in serum and cerebrospinal fluid of patients with Parkinson's disease. *J Neurol Sci*. 1997;151(2):159–162. DOI:10.1016/S0022-510X(97)00119-6
120. Sharma V, Ichikawa M, Freeze HH. Mannose metabolism: More than meets the eye. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014;453(2):220–228. DOI:10.1016/j.bbrc.2014.06.021
121. Wu J, Wuolikainen A, Trupp M, Jonsson P, Marklund SL, Andersen PM, et al. NMR analysis of the CSF and plasma metabolome of rigorously matched amyotrophic lateral sclerosis, Parkinson's disease and control subjects. *Metabolomics*. 2016;12(6):1–13. DOI:10.1007/s11306-016-1041-6
122. LeWitt PA, Li J, Lu M, Beach TG, Adler CH, Guo L. 3-hydroxykynurenine and other Parkinson's disease biomarkers discovered by metabolomic analysis. *Mov Disord*. 2013;28(12):1653–1660. DOI:10.1002/mds.25555
123. Fernstrom JD. Branched-Chain Amino Acids and Brain Function. *J Nutr*. 2005;135(6):1539–1546. DOI:10.1093/jn/135.6.1539S
124. Kumari S, Kumaran SS, Goyal V, Sharma RK, Sinha N, Dwivedi SN, et al. Identification of potential urine biomarkers in idiopathic parkinson's disease using NMR. *Clin Chim Acta*. 2020;510:442–449. DOI:10.1016/j.cca.2020.08.005

125. Antonio Molina J, Javier Jiménez-Jiménez F, Gómez P, Vargas C, Antonio Navarro J, Ortí-Pareja M, et al. Decreased cerebrospinal fluid levels of neutral and basic amino acids in patients with Parkinson's disease. *J Neurol Sci.* 1997;150(2):123–127. DOI:10.1016/S0022-510X(97)00069-5
126. Perier C, Vila M. Mitochondrial Biology and Parkinson's Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;2(2):1–19. DOI:10.1101/cshperspect.a009332
127. Winn SR, Scherer T, Thöny B, Ying M, Martinez A, Weber S, et al. Blood phenylalanine reduction corrects CNS dopamine and serotonin deficiencies and partially improves behavioral performance in adult phenylketonuric mice. *Mol Genet Metab.* 2018;123(1):6–20. DOI:10.1016/j.ymgme.2017.10.009
128. Luan H, Liu L-F, Tang Z, Zhang M, Chua K-K, Song J-X, et al. Comprehensive urinary metabolomic profiling and identification of potential noninvasive marker for idiopathic Parkinson's disease. *Sci Rep.* 2015;5:13888. DOI:10.1038/srep13888
129. Norwitz NG, Hu MT, Clarke K. The Mechanisms by Which the Ketone Body D- β -Hydroxybutyrate May Improve the Multiple Cellular Pathologies of Parkinson's Disease. *Front Nutr.* 2019;6:63. DOI:10.3389/fnut.2019.00063
130. Pitt JJ. Principles and Applications of Liquid Chromatography-Mass Spectrometry in Clinical Biochemistry. *Clin Biochem Rev.* 2009;30(1):19–34.
131. Theodoridis GA, Gika HG, Want EJ, Wilson ID. Liquid chromatography–mass spectrometry based global metabolite profiling: A review. *Anal Chim Acta.* 2012;711:7–16. DOI:10.1016/j.aca.2011.09.042
132. Marshall DD, Powers R. Beyond the paradigm: Combining mass spectrometry and nuclear magnetic resonance for metabolomics. *Prog Nucl Magn Reson Spectrosc.* 2017;100(1):1–16. DOI:10.1016/j.pnmrs.2017.01.001
133. Havelund J, Heegaard N, Færgeman N, Gramsbergen J. Biomarker Research in Parkinson's Disease Using Metabolite Profiling. *Metabolites.* 2017;7(3):1–18. DOI:10.3390/metabo7030042
134. Claudel T, Staels B, Kuipers F. The Farnesoid X Receptor: A Molecular Link Between Bile Acid and Lipid and Glucose Metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(10):2020–2031. DOI:10.1161/01.ATV.0000178994.21828.a7

135. Moon J-Y, Choi MH, Kim J. Metabolic profiling of cholesterol and sex steroid hormones to monitor urological diseases. *Endocr Relat Cancer*. 2016;23(10):455–467. DOI:10.1530/ERC-16-0285
136. Pierre G, Macdonald A, Gray G, Hendriksz C, Preece MA, Chakrapani A. Prospective treatment in carnitine–acylcarnitine translocase deficiency. *J Inherit Metab Dis*. 2007;30(5):815. DOI:10.1007/s10545-007-0518-x
137. Shao Y, Li T, Liu Z, Wang X, Xu X, Li S, et al. Comprehensive metabolic profiling of Parkinson’s disease by liquid chromatography-mass spectrometry. *Mol Neurodegener*. 2021;16(1):1–15. DOI:10.1186/s13024-021-00425-8
138. Burté F, Houghton D, Lowes H, Pyle A, Nesbitt S, Yarnall A, et al. metabolic profiling of Parkinson’s disease and mild cognitive impairment. *Mov Disord*. 2017;32(6):927–932. DOI:10.1002/mds.26992
139. Shah A, Han P, Wong M-Y, Chang R, Legido-Quigley C. Palmitate and Stearate are Increased in the Plasma in a 6-OHDA Model of Parkinson’s Disease. *Metabolites*. 2019;9(2):1–14. DOI:10.3390/metabo9020031
140. Calder PC. Functional Roles of Fatty Acids and Their Effects on Human Health. *J Parenter Enter Nutr*. 2015;39(1):18–32. DOI:10.1177/0148607115595980
141. Sharon R, Bar-Joseph I, Frosch MP, Walsh DM, Hamilton JA, Selkoe DJ. The Formation of Highly Soluble Oligomers of α -Synuclein Is Regulated by Fatty Acids and Enhanced in Parkinson’s Disease. *Neuron*. 2003;37(4):583–595. DOI:10.1016/S0896-6273(03)00024-2
142. Kawahata I, Bousset L, Melki R, Fukunaga K. Fatty Acid-Binding Protein 3 is Critical for α -Synuclein Uptake and MPP+-Induced Mitochondrial Dysfunction in Cultured Dopaminergic Neurons. *Int J Mol Sci*. 2019;20(21):1–13. DOI:10.3390/ijms20215358
143. Cirstea MS, Yu AC, Golz E, Sundvick K, Klinger D, Radisavljevic N, et al. Microbiota Composition and Metabolism Are Associated With Gut Function in Parkinson’s Disease. *Mov Disord*. 2020;35(7):1208–1217. DOI:10.1002/mds.28052
144. Plewa S, Poplawska-Domaszewicz K, Florczak-Wyspianska J, Klupczynska-Gabryszak A, Sokol B, Milyk W, et al. The Metabolomic Approach Reveals the Alteration in Human Serum and Cerebrospinal Fluid Composition in Parkinson’s

- Disease Patients. *Pharmaceuticals*. 2021;14(9):1–18. DOI:10.3390/ph14090935
145. Antony T, Hoyer W, Cherny D, Heim G, Jovin TM, Subramaniam V. Cellular Polyamines Promote the Aggregation of α -Synuclein. *J Biol Chem*. 2003;278(5):3235–3240. DOI:10.1074/jbc.M208249200
 146. Wu G, Bazer FW, Burghardt RC, Johnson GA, Kim SW, Knabe DA, et al. Proline and hydroxyproline metabolism: implications for animal and human nutrition. *Amino Acids*. 2011;40(4):1053–1063. DOI:10.1007/s00726-010-0715-z
 147. Palka J, Oscilowska I, Szoka L. Collagen metabolism as a regulator of proline dehydrogenase/proline oxidase-dependent apoptosis/autophagy. *Amino Acids*. 2021;53(12):1917–25. DOI:10.1007/s00726-021-02968-y
 148. Surazynski A, Donald SP, Cooper SK, Whiteside MA, Salnikow K, Liu Y, et al. Extracellular matrix and HIF-1 signaling: The role of prolylase. *Int J Cancer*. 2008;122(6):1435–1440. DOI:10.1002/ijc.23263
 149. Li J, Li SX, Gao XH, Zhao LF, Du J, Wang TY, et al. HIF1A and VEGF regulate each other by competing endogenous RNA mechanism and involve in the pathogenesis of peritoneal fibrosis. *Pathol - Res Pract*. 2019;215(4):644–652. DOI:10.1016/j.prp.2018.12.022
 150. Yasuhara T, Shingo T, Muraoka K, wen ji Y, Kameda M, Takeuchi A, et al. The differences between high and low-dose administration of VEGF to dopaminergic neurons of in vitro and in vivo Parkinson's disease model. *Brain Res*. 2005;1038(1):1–10. DOI:10.1016/j.brainres.2004.12.055
 151. Luan H, Liu LF, Meng N, Tang Z, Chua KK, Chen LL, et al. LC-MS-based urinary metabolite signatures in idiopathic Parkinson's disease. *J Proteome Res*. 2015;14(1):467–478. DOI:10.1021/pr500807t
 152. Czyrak A, Chocyk A. Search for the presence of glucocorticoid receptors in dopaminergic neurons of rat ventral tegmental area and substantia nigra. *Pol J Pharmacol*. 2001;53(6):681–684.
 153. Kibel A, Drenjančević-Perić I. Impact of glucocorticoids and chronic stress on progression of Parkinson's disease. *Med Hypotheses*. 2008;71(6):952–956. DOI:10.1016/j.mehy.2008.06.036

154. Joergensen A, Broedbaek K, Weimann A, Semba RD, Ferrucci L, Joergensen MB, et al. Association between Urinary Excretion of Cortisol and Markers of Oxidatively Damaged DNA and RNA in Humans. Borrás C, editor. PLoS One. 2011;6(6):1–6. DOI:10.1371/journal.pone.0020795
155. Vreken P, van Lint AEM, Bootsma AH, Overmars H, Wanders RJA, van Gennip AH. Rapid Diagnosis of Organic Acidemias and Fatty-acid Oxidation Defects by Quantitative Electrospray Tandem-MS Acyl-Carnitine Analysis in Plasma. In: Advances in Experimental Medicine and Biology. 2002. p. 327–337. DOI:10.1007/0-306-46818-2_38
156. Sas K, Robotka H, Toldi J, Vécsei L. Mitochondria, metabolic disturbances, oxidative stress and the kynurenine system, with focus on neurodegenerative disorders. J Neurol Sci. 2007;257:221–239. DOI:10.1016/j.jns.2007.01.033
157. Németh H, Toldi J, Vécsei L. Kynurenines, Parkinson's disease and other neurodegenerative disorders: preclinical and clinical studies. In: Parkinson's Disease and Related Disorders. Vienna: Springer Vienna; 2006. p. 285–304. DOI:10.1007/978-3-211-45295-0_45
158. Tsugawa H, Bamba T, Shinohara M, Nishiumi S, Yoshida M, Fukusaki E. Practical non-targeted gas chromatography/mass spectrometry-based metabolomics platform for metabolic phenotype analysis. J Biosci Bioeng. 2011;112(3):292–298. DOI:10.1016/j.jbiosc.2011.05.001
159. Mastrangelo A, Ferrarini A, Rey-Stolle F, García A, Barbas C. From sample treatment to biomarker discovery: A tutorial for untargeted metabolomics based on GC-(EI)-Q-MS. Anal Chim Acta. 2015;900:21–35. DOI:10.1016/j.aca.2015.10.001
160. Beale DJ, Pinu FR, Kouremenos KA, Poojary MM, Narayana VK, Boughton BA, et al. Review of recent developments in GC–MS approaches to metabolomics-based research. Metabolomics. 2018;14(152):1–31. DOI:10.1007/s11306-018-1449-2
161. Villas-Bôas SG, Højer-Pedersen J, Åkesson M, Smedsgaard J, Nielsen J. Global metabolite analysis of yeast: evaluation of sample preparation methods. Yeast. 2005;22(14):1155–1169. DOI:10.1002/yea.1308
162. Fiehn O. Extending the breadth of metabolite profiling by gas chromatography coupled to mass spectrometry. TrAC Trends Anal Chem. 2008;27(3):261–269. DOI:10.1016/j.trac.2008.01.007

163. Papadimitropoulos M-EP, Vasilopoulou CG, Maga-Nteve C, Klapa MI. Untargeted GC-MS Metabolomics. *Methods in Mol Biol.* 2018;1738: 133–147. DOI:10.1007/978-1-4939-7643-0_9
164. Glaab E, Trezzi J-P, Greuel A, Jäger C, Hodak Z, Drzezga A, et al. Integrative analysis of blood metabolomics and PET brain neuroimaging data for Parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 2019;124:555–562. DOI:10.1016/j.nbd.2019.01.003
165. Foschi FG. Urea cycle disorders: A case report of a successful treatment with liver transplant and a literature review. *World J Gastroenterol.* 2015;21(13):4063–4068. DOI:10.3748/wjg.v21.i13.4063
166. Parmeggiani B, Vargas CR. Oxidative stress in urea cycle disorders: Findings from clinical and basic research. *Clin Chim Acta.* 2018;477:121–126. DOI:10.1016/j.cca.2017.11.041
167. Troisi J, Landolfi A, Vitale C, Longo K, Cozzolino A, Squillante M, et al. A metabolomic signature of treated and drug-naïve patients with Parkinson's disease: a pilot study. *Metabolomics.* 2019;15(6):1–11. DOI:10.1007/s11306-019-1554-x
168. Shafei MA, Harris M, Conway ME. Divergent Metabolic Regulation of Autophagy and mTORC1—Early Events in Alzheimer's Disease? *Front Aging Neurosci.* 2017;9:1–9. DOI:10.3389/fnagi.2017.00173
169. Lan A, Chen J, Zhao Y, Chai Z, Hu Y. mTOR Signaling in Parkinson's Disease. *NeuroMolecular Med.* 2017;19(1):1–10. DOI:10.1007/s12017-016-8417-7
170. Sharma S, Taliyan R, Singh S. Beneficial effects of sodium butyrate in 6-OHDA induced neurotoxicity and behavioral abnormalities: Modulation of histone deacetylase activity. *Behav Brain Res.* 2015;291:306–314. DOI:10.1016/j.bbr.2015.05.052
171. St. Laurent R, O'Brien LM, Ahmad ST. Sodium butyrate improves locomotor impairment and early mortality in a rotenone-induced *Drosophila* model of Parkinson's disease. *Neuroscience.* 2013;246:382–390. DOI:10.1016/j.neuroscience.2013.04.037
172. Sampson TR, Debelius JW, Thron T, Janssen S, Shastri GG, Ilhan ZE, et al. Gut Microbiota Regulate Motor Deficits and Neuroinflammation in a Model of Parkinson's Disease. *Cell.* 2016;167(6):1469–1480. DOI:10.1016/j.cell.2016.11.018

173. Mock DM, Stratton SL, Horvath TD, Bogusiewicz A, Matthews NI, Henrich CL, et al. Urinary Excretion of 3-Hydroxyisovaleric Acid and 3-Hydroxyisovaleryl Carnitine Increases in Response to a Leucine Challenge in Marginally Biotin-Deficient Humans. *J Nutr.* 2011;141(11):1925–1930. DOI:10.3945/jn.111.146126
174. Dunn L, Allen GFG, Mamais A, Ling H, Li A, Duberley KE, et al. Dysregulation of glucose metabolism is an early event in sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging.* 2014;35(5):1111–1115. DOI:10.1016/j.neurobiolaging.2013.11.001
175. Rutten EPA, Engelen MPKJ, Schols AMWJ, Deutz NEP. Skeletal muscle glutamate metabolism in health and disease: state of the art. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2005;8(1):41–51. DOI:10.1097/00075197-200501000-00007
176. Hernandez MS, de Magalhães L, Troncone LRP. Glycine stimulates the release of labeled acetylcholine but not dopamine nor glutamate from superfused rat striatal tissue. *Brain Res.* 2007;1168(1):32–37. DOI:10.1016/j.brainres.2007.06.090
177. Zhao H, Wang C, Zhao N, Li W, Yang Z, Liu X, et al. Potential biomarkers of Parkinson's disease revealed by plasma metabolic profiling. *J Chromatogr B.* 2018;1081–1082:101–108. DOI:10.1016/j.jchromb.2018.01.025

Capítulo 2 - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

1. Introdução

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas tem como objetivo principal a aquisição de conhecimentos e capacidades que visa preparar profissionais de saúde para poderem exercer o seu papel nas mais variadas áreas, existindo no final do ciclo de estudos um estágio que tem como principal função fornecer capacidades e aperfeiçoamento do estagiário, aproximando este da realidade ali existente, como por exemplo o Estágio em Farmácia Comunitária, que será o tema descrito neste capítulo.

A farmácia Comunitária é considerada o primeiro local onde os Portugueses vão quando têm questões de saúde, sendo um setor considerado de grande responsabilidade na prestação de cuidados de proximidade e também de informação, bem como o aconselhamento sobre o uso correto e responsável do medicamento, sendo o farmacêutico considerado altamente competente em farmacoterapia, e possuindo um papel na área da Saúde Pública podendo contribuir para a gestão da terapêutica, determinação de parâmetros e promoção de estilos de vida mais saudáveis, incluindo a deteção precoce de doenças (1).

Seguidamente estará presente o relatório referente ao estágio curricular que foi realizado numa farmácia comunitária, a Farmácia Rodrigues dos Santos, onde será descrita toda a aprendizagem feita, desde o dia 1 de março de 2021 até 9 de julho de 2021, sob orientação da Farmacêutica Sónia Martins.

2. Organização da Farmácia

2.1 Localização e horário de funcionamento

A Farmácia Rodrigues dos Santos (FRS) localiza-se na rua Prof. Dr. Faria de Vasconcelos, nr. ° 16, em Castelo Branco e está aberta de segunda-feira a sábado. De segunda a sexta-feira o horário de funcionamento das 9 às 20 horas, e no sábado entre as 9 e as 13 horas, o que obedece ao limite mínimo de 44 horas semanais de funcionamento.

A farmácia também se encontra em regime de rotatividade com as outras farmácias de Castelo Branco, o que significa que está aberta 24 horas nesses dias em que é efetuado o serviço, desde as 9 da manhã desse dia até às 9 da manhã do dia seguinte.

2.2 População

A maioria dos utentes são os habituais que costumam ir à FRS com frequência, pertencentes à faixa etária entre os 40 e os 80 anos. Também devido à sua localização perto da Escola Superior de Educação, é justificável o aparecimento diário de alguns utentes de faixa etária jovem. É de reparar que os clientes habituais são reconhecidos e tratados pelo primeiro nome assim que entram na farmácia, o que promove uma determinada empatia e confiança, sendo esta importante para a relação com o utente.

2.3 Recursos Humanos

Relativamente aos recursos humanos, a FRS apresenta um quadro farmacêutico e não farmacêutico.

A Dra. Adozinda Santos é a proprietária e Diretora Técnica (DT) da FRS. Como Farmacêuticos Substitutos estão presentes a Dra. Sónia Martins e a Dra. Marta Carvalho.

No que diz respeito ao quadro não farmacêutico, temos como Técnico de Farmácia a Sra. Anabela Correia e a Sr. Elsa Roque, e como Técnicos Auxiliares de Farmácia o Sr. Miguel Gonçalves e o Sr. José Santos. A equipa integra ainda o Sr. Santos, co-proprietário e responsável pelos assuntos administrativos e de gestão da farmácia.

Esta disposição dos recursos humanos está de acordo com o Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de Agosto (2).

Relativamente ao DT, deve assumir a responsabilidade por todos os atos farmacêuticos praticados na farmácia. Deve promover o uso racional do medicamento, informando e assegurando a prestação de informações esclarecedoras acerca do correto modo da sua utilização, assegurar que a farmácia dispõe de quantidades suficientes de medicamentos provisionados e que respeita os requisitos de segurança e higiene, verificar o cumprimento das regras deontológicas da atividade farmacêutica e de todos os deveres previstos na legislação reguladora da atividade farmacêutica (3).

2.4 Organização da farmácia

2.4.1 Espaço exterior (3)

O espaço exterior da farmácia deve ser identificado e facilmente visível, bem como profissional e característico de uma farmácia.

A FRS situa-se no rés-do-chão de um prédio que se encontra habitado. Na sua parte externa, a farmácia encontra-se identificada com uma cruz verde, sendo este o símbolo característico das farmácias portuguesas, um letreiro com o nome da farmácia, o nome da sua direção técnica, o horário de funcionamento da farmácia bem como informação referente à farmácia que se encontra de serviço em Castelo Branco, incluindo a localização e contato dessa farmácia. Tem ainda três montras decoradas com anúncios publicitários, estando estas normalmente ocupadas por produtos de venda livres que são selecionados de acordo com a época do ano.

O acesso à farmácia deve ser garantido a todos os potenciais utentes, isto inclui crianças, idosos, e cidadão que poderão possuir deficiências.

2.4.2 Espaço interior

No espaço interior, a farmácia deve cumprir o que está estabelecido por lei, como uma área mínima obrigatória de 95m², e deve dispor das 5 divisões obrigatórias devidamente dimensionadas, que são a sala de atendimento ao público, armazém, laboratório, instalações sanitárias e gabinete de atendimento personalizado, podendo ainda possuir divisões facultativas, como o gabinete da direção técnica (4).

A sala de atendimento é o local destinado ao atendimento dos utentes. Esta deve permitir o serviço farmacêutico adequado, portanto o ambiente deve estar calmo e iluminado. Na sala de atendimento ao público encontram-se quatro postos de atendimentos distintos, possuindo barreiras físicas à frente dos postos devido à situação pandémica. Cada posto é devidamente equipado com um computador e uma impressora tendo a função de impressão de talões de faturação e impressão no verso das receitas manuais. Também nesta área de atendimento estão expostos os produtos de venda livre que estão organizados pela zona de aplicação.

Dentro destes produtos estão os de dermocosmética e capilares, suplementos alimentares e vitamínicos, os produtos de higiene oral, os produtos fitoterapêuticos, materiais

ortopédicos, dispositivos médicos, e também os medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM).

Na área de armazenamento são processadas todas as encomendas após estas serem feitas, desde a receção usando computadores e leitores óticos até ao armazenamento. Os produtos são então armazenados em armários de gavetas deslizantes, encontrando-se estes organizados por ordem alfabética do nome comercial e separados por forma farmacêutica e função.

Assim, encontra-me separados os comprimidos e os comprimidos antibióticos, protocolo de diabetes, ampolas, uso interno, uso externo, xaropes e os xaropes antibióticos, pomadas, supositórios, gotas orais, injetáveis, colírios e aerossóis.

Os medicamentos genéricos estão armazenados em armários distintos e organizados por ordem alfabética e da dosagem menor para a maior do princípio ativo.

Também existe uma zona em que se colocam os produtos que se encontram perto do fim da data de validade para ser mais fácil o escoamento e também um armário onde se colocam os produtos excedentes para posteriormente serem repostos nos seus devidos lugares.

Produtos que sejam necessários conservar no frio, como o caso das insulinas, alguns colírios, entre outros, estão armazenados num frigorífico com a temperatura devidamente regulada.

O laboratório diz respeito à sala onde se preparam medicamentos manipulados. No laboratório estão presentes as matérias primas necessárias para a preparação bem como os equipamentos necessários, bancadas, armários e um lavatório.

O gabinete de atendimento personalizado é o local utilizado caso exista uma situação em que seja necessário um atendimento individualizado em que a pessoa queira falar sem a preocupação de ser ouvida por outros utentes. Também é o local onde se administra injetáveis e onde se mede a pressão arterial bem como determinação de parâmetros bioquímicos, como o colesterol e a glicémia capilar.

O escritório é o local destinado ao tratamento de assuntos financeiros, à gestão administrativa e contabilista da farmácia, possuindo equipamento informático para tal. Também é neste local que se encontra a bibliografia, como o Formulário Galénico Português e a Farmacopeia Portuguesa.

2.5 Equipamentos e Materiais

A FRS apresenta todos os materiais e equipamentos fundamentais para o bom funcionamento da farmácia:

- Materiais de laboratório, como balanças, varetas, provetas, pipetas, placas de mármore e espátulas;
- Equipamentos de comunicação e equipamentos informáticos, como os computadores, leitores óticos, impressoras, leitores de cartão de cidadão e telefones;
- Equipamentos de segurança, como câmaras de videovigilância, alarmes e extintores;
- Termohigrometros, máquina de medição da pressão arterial e materiais de medição de parâmetros bioquímicos.

2.6 Sistema Informático

Os recursos informáticos são um grande apoio para a gestão e normal funcionamento da farmácia. Na FRS é utilizado o Sifarma, desenvolvido pela Glintt, servindo este sistema de grande apoio à farmácia.

Durante o estágio na FRS, esta estava numa fase de transição pois encontrava-se a utilizar as duas versões do Sifarma, o Sifarma 2000 e o Sifarma “novo” (Sifarma.MA), pois este último ainda não tem todas as funcionalidades do primeiro.

Geralmente no balcão, o módulo mais usado no programa é o de atendimento. Após carregar neste módulo, aparece automaticamente uma página em que o primeiro passo é identificar o utente em questão e selecionar se queremos proceder à dispensa de produtos de venda livre ou MNSRM (sem comparticipação) ou se queremos medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) que são comparticipados, onde também é necessário selecionar se a respetiva receita é manual ou eletrónica. Não existe distinção entre vendas normais ou vendas suspensas, uma vez que neste programa atualizado, todos os produtos sujeitos a receita médica poderão ser posteriormente comparticipados após ser feita a venda sem a comparticipação.

Neste módulo do atendimento ainda é possível consultar informações científicas de cada produto, como interações, mecanismo de ação, grupo terapêutico, posologia, efeitos adversos e contra-indicações.

É possível também fazer neste sistema, no módulo das encomendas, a gestão de stocks, controlos de validade, realizar encomendas, podendo decidir se desejamos fazer encomendas diárias com base nos stocks máximos e mínimos ou encomendas instantâneas, receção de encomendas, etiquetagem de produtos da farmácia e realizar

reserva de produtos, que é usada quando a farmácia não tem os produtos desejados pelo utente e assim é feita uma reserva no sistema para posteriormente se proceder à venda.

Este Sifarma.MA apresenta vantagens em relação ao Sifarma 2000, sendo mais perceptível e intuitivo em termos de aprendizagem, permite uma gestão de vários utentes em simultâneo no mesmo atendimento, gerir faturas com diferentes nomes e mudar métodos de pagamento.

3. Informação científica e Documentação

Os farmacêuticos têm a responsabilidade profissional de assegurar que os utentes conseguem beneficiar da terapêutica com medicamentos bem como transmitir informação correta ao utente de forma clara, perceptível e esclarecedora. Assim sendo, têm a responsabilidade de atualizarem os seus conhecimentos, competências e aptidões ao longo da vida de profissão. Esta aquisição é feita utilizando fontes bibliográficas fidedignas para que a qualidade da informação adquirida seja garantida e posteriormente ser prestada ao utente (5).

A farmácia deve dispor de fontes bibliográficas atualizadas caso seja necessário à sua consulta, como por exemplo o Formulário Galénico Português, a Farmacopeia Portuguesa, o Prontuário Terapêutico, entre outras. Todas estas estão presentes na FRS (3).

Também outras fontes bibliográficas podem ser usadas, como artigos científicos, Infomed e revistas.

4. Produtos de Saúde e Medicamentos (6)

Os produtos de saúde são todos os produtos que possuem substâncias com propriedades preventivas ou curativas de doenças, no entanto não são considerados medicamento, uma vez que não seguem a definição do medicamento para uso humano, que segundo o estatuto do medicamento estabelecido no Decreto-Lei nº176/2006, de 30 de agosto, a definição de medicamento apresenta-se como “toda a substância ou associação de substâncias apresentada como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças em seres humanos ou dos seus sintomas ou que possa ser utilizada ou administrada no ser humano com vista a estabelecer um diagnóstico médico ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas”.

É importante definir também medicamentos genéricos pois é dada sempre a escolha ao utente de optar por estes, uma vez que são economicamente mais acessíveis que os de marca, sendo a definição destes medicamentos “medicamento com a mesma composição qualitativa e quantitativa em substâncias ativas, a mesma forma farmacêutica e cuja bioequivalência com o medicamento de referência haja sido demonstrada por estudos de biodisponibilidade apropriados”.

Também na farmácia podem ser preparados medicamentos, nesse caso são chamados de medicamentos manipulados, podendo estes serem preparados officinais, que dizem respeito a “ qualquer medicamento preparado segundo as indicações compendiais de uma farmacopeia ou de um formulário oficial, numa farmácia de oficina ou em serviços farmacêuticos hospitalares, destinado a ser dispensado diretamente aos doentes assistidos por essa farmácia ou serviço”, ou Fórmulas Magistrais , “qualquer medicamento preparado numa farmácia de oficina ou serviço farmacêutico hospitalar, segundo uma receita médica e destinado a um doente determinado”.

5. Gestão da Farmácia

5.1 Seleção de Fornecedores e critérios de aquisição de produtos

Os produtos que se queiram adquirir para a farmácia podem ser requeridos a armazenistas ou diretamente ao fabricante. A escolha do fornecedor da farmácia é importante para que seja possível garantir a qualidade dos produtos, pois este vai influenciar a qualidade dos serviços que serão prestados na farmácia. Assim, o fornecedor deve ser selecionado em função da periodicidade de entrega, os termos de devolução, os preços e descontos, bonificações que a farmácia beneficia em vender esses produtos e também a disponibilidade dos produtos.

Relativamente aos produtos desejados, devem ser tidos em conta vários fatores para a sua aquisição, como a publicidade existente, a rotação mensal do produto bem como o seu stock atual, a sazonalidade, as condições económicas dos utentes da farmácia e também a necessidade que os utentes têm

No caso da FRS, três fornecedores principais são utilizados: a Plural, a Allience Healthcare e a Bayer. São escolhidos tendo em conta os custos de aquisição, os descontos, as bonificações existentes e o tempo de duração da entrega bem como a urgência em adquirir

os produtos. A FRS tem uma proximidade física com armazém da Alliance Healthcare, portanto, no caso de existir uma urgência na obtenção de um produto, muitas vezes um funcionário da farmácia vai ao armazém buscar diretamente o medicamento para que o utente o possa ter o mais rápido possível.

Também será possível a aquisição de produtos por contato direto com o laboratório por intermédio de delegados de saúde ou por telefone. Estes visitam a farmácia com alguma regularidade e informam sobre possíveis campanhas e promoções que possam estar em vigor.

5.2 Encomendas

5.2.1 Elaboração de encomendas

Para que se possa responder as necessidades da farmácia e dos utentes, é importante existir uma boa gestão de stocks e uma boa racionalização tanto dos produtos como dos fundos da farmácia disponíveis. Após uma análise do consumo dos produtos, são definidos os seus níveis de *stock* máximo e *stock* mínimo. Esta definição de limites evita que haja ruturas de *stock* e também que uns números elevados de produtos sejam encomendados, levando possivelmente ao desperdício.

Existem quatro tipos de encomendas, as encomendas instantâneas, diretas, as por via verde e as diárias.

As encomendas instantâneas são efetuadas através do Sifarma, diretamente ao fornecedor. Este tipo de encomenda geralmente acontece quando estamos no atendimento e o utente deseja um produto específico. É feita uma reserva utilizando o nome do utente e este é informado com a data e a hora da entrega prevista, informação que aparece no momento da seleção de fornecedores.

As encomendas diretas dizem respeito às que são realizadas quando existe algum tipo de benefícios para a farmácia.

As encomendas por via verde existem pois há alguns medicamentos que possuem disponibilidade reduzida. Assim existe a via verde, para que se possa garantir o fornecimento destes medicamentos a todas as farmácias.

As encomendas diárias são feitas com base nos limites de *stock* máximo e *stock* mínimo. O Sifarma cria uma proposta de encomenda com todos os produtos que atingiram o *stock* mínimo ou que têm uma reserva existente. Posteriormente é analisada a proposta pelo

farmacêutico responsável, que poderá acrescentar ou remover pedidos em função das necessidades da farmácia. Após ser aprovada, a encomenda é enviada ao fornecedor.

Também existem encomendas que se podem fazer por telefone quando se trata de pedidos pontuais ou urgentes.

5.2.2 Receção de encomendas, verificação e devolução

Na FRS as encomendas são recebidas duas vezes ao dia. Se a encomenda for feita de manhã, são recebidas na tarde do próprio dia. As encomendas são entregues em contentores e são acompanhadas por uma fatura que é emitida em duplicado. Nesta fatura devem constar o código nacional do produto (CNP), a data e número da fatura, o nome do fornecedor, a quantidade encomendada e fornecida, o preço de venda ao armazenista (PVA), o preço de venda ao público (PVP), o preço de venda à farmácia (PVF), a percentagem de imposto referente ao valor, e o valor total da fatura. Também nestas faturas devem estar discriminados todos os produtos encomendados com o seu nome comercial, dosagem e forma farmacêutica.

Para dar início à receção da encomenda, acede-se ao Sifarma no módulo “encomendas” e posteriormente a “receção de encomendas”. Neste local estão presentes todas as encomendas feitas que estão por rececionar e listadas por códigos correspondentes às faturas. Pode dar-se o caso de na mesma fatura existirem várias encomendas do mesmo fornecedor, devendo-se neste caso agrupar os vários códigos e gerar uma nova encomenda.

Após inserir o número da fatura e o valor desta, procedemos à introdução dos produtos no sistema através da leitura ótica do código de barras ou introdução manual do código de cada produto. Nesta etapa é importante verificar a integridade dos produtos, as quantidades enviadas, os preços de venda e verificar e comparar o prazo de validade na embalagem e o introduzido no sistema e alterá-lo este caso não exista *stock* do produto e o prazo descrito do sistema seja superior ao descrito na embalagem.

No caso dos produtos de venda livre, cabe à farmácia estipular os preços com base no PVF e as margens de lucro.

Caso surjam problemas como o envio de produtos não encomendados, danificados, não faturados ou faturados com preço incorreto, estes devem ser devolvidos ao fornecedor, utilizando o Sifarma 2000, a partir de uma nota de devolução, onde deve estar presente o distribuidor, nome do produto, número de produtos que se quer devolver, motivo da devolução, e o número da fatura da encomenda. Essa nota de devolução é impressa sob a

forma de 3 exemplares devidamente assinados e carimbados. Uma cópia fica para a farmácia arquivar e as outras duas vão com os produtos que se desejam devolver.

Após a devolução, o fornecedor pode enviar produtos iguais ou de igual valor ou emitir uma nota de crédito para a farmácia com o valor dos produtos devolvidos. Caso não seja aceite a devolução, a farmácia deve proceder à quebra do produto em stock para que ele não continue lá.

No caso das encomendas por telefone, esta não se encontra na lista das encomendas. Terá de ser criada manualmente e de seguida proceder à sua receção.

5.2.3 Marcação de preços

De acordo com a legislação, cabe à Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. (INFARMED) estabelecer preços dos MSRM tendo em conta o PVA e também taxas e margens de comercialização (7,8)

Este preço tem obrigação de estar presente na embalagem dos medicamentos (9).

Relativamente aos MNSRM e aos produtos de venda livre, a farmácia tem a função de marcar os próprios preços, não possuindo estes o preço marcado nas embalagens. Estes preços são feitos com base na margem de lucro mais conveniente para a farmácia e o Imposto sobre o Valor Acrescentado (IVA) feito sobre os produtos, podendo ser 6% ou 23%.

Após serem feitos os preços, são impressos em etiquetas e colados nas embalagens dos produtos.

5.2.4 Armazenamento

Após ter sido dada a entrada dos produtos, estes devem ser armazenados tendo em conta as condições como a humidade, iluminação e temperatura para que se possa garantir a preservação e assegurar que a qualidade e as propriedades dos produtos se mantenham.

Existem vários locais de armazenamento dependendo da forma farmacêutica ou de condições especiais de armazenamento. Os produtos estão armazenados por ordem alfabética por dosagem crescente, obedecendo à regra FEFO (First Expired First Out), o que significa os produtos cuja validade é mais curta, devem estar mais acessíveis para que se dê a sua saída na dispensa.

Os produtos devem estar conservados a uma temperatura máxima de 25 °C e uma humidade inferior a 60%. No caso dos produtos que necessitam de temperaturas mais

baixam de armazenamento, são colocados no frigorífico a uma temperatura entre 2-8 °C. Para estas condições estarem armazenadas, a FRS dispõe de três termohigrómetros distribuídos pela farmácia.

O processo de armazenamento foi dos primeiros processos que fiz assim que comecei o estágio. É um processo bastante importante para me familiarizar com os nomes comerciais e os princípios ativos dos medicamentos. Mais tarde este processo foi importante também para saber onde estava o local e tornar o atendimento mais rápido e eficiente.

5.3 Controlo dos prazos de validade

O controlo dos prazos de validade é importante para garantir uma boa gestão de *stocks* e que os produtos da farmácia se encontrem sempre em bom estado.

O prazo de validade diz respeito ao intervalo de tempo em que um produto pode ser utilizado ou consumido com a garantia de possuir a estabilidade e as propriedades terapêuticas inicialmente definidas. Assim, é importante dispensar o medicamento e verificar o prazo de validade para que este não esteja expirado ou não expire durante o tratamento.

Como foi anteriormente mencionado no ponto 5.2.2, é sempre comparado o prazo de validade da embalagem com o prazo presente no sistema, procedendo-se à sua alteração no sistema caso seja necessário.

Os prazos de validade são controlados mensalmente com o auxílio do Sifarma. É impressa uma listagem com os produtos cuja validade corresponde à inserida no sistema e expira nos próximos três meses bem como as quantidades destes. Seguidamente inicia-se o procedimento da verificação, em que cada produto é verificado manualmente para verificar se o prazo de validade está de acordo com o prazo inserido no sistema. Caso esteja de acordo com o sistema, o produto é retirado e colocado numa prateleira à parte para promover o seu escoamento ou para serem devolvidos ao fornecedor através de uma nota de devolução. Se o prazo de validade do sistema não coincidir com o prazo da embalagem, este último deve ser apontado para se proceder à atualização no sistema.

6. Preparação de medicamentos

6.1 Aquisição de matérias-primas

Todas as matérias-primas usadas para a preparação de medicamentos manipulados devem ser adquiridas a fornecedores autorizados pelo INFARMED e devem cumprir as exigências e critérios que estão descritas na monografia presente na Farmacopeia Portuguesa, na farmacopeia de outros Estados Membros, Farmacopeia Europeia ou em documentação científica compendial, pois só as matérias-primas inscritas nestas farmacopeias é que podem ser utilizadas para a preparação de medicamentos. Estas matérias-primas devem ser acompanhadas por um boletim de análise servindo este para assegurar a conformidade com a monografia (10,11).

6.2 Preparação de Manipulados

A preparação de manipulados tem vindo a diminuir e a ser feita apenas em casos pontuais, uma vez que a indústria farmacêutica está em constante evolução e a ficar cada vez mais desenvolvida.

Recorre-se a estas preparações quando as preparações já existentes no mercado não satisfazem as necessidades do utente, quer por não ter a forma farmacêutica ou a dosagem adequada.

Dentro dos manipulados, podemos distinguir dois tipos, como descrito no ponto 4: as preparações officinais, quando as preparações são feitas com indicação da farmacopeia ou Formulário Galénico Português (FGP), e as preparações magistrais, em que estas são feitas segundo uma prescrição médica.

A preparação do manipulado inicia-se com o preenchimento de uma ficha de preparação onde se regista as substâncias utilizadas, o número do lote, os dados do prescritor e do utente, controlo de qualidade, prazos de validade e modo de preparação.

Após a preparação do manipulado, é importante verificar no final, com o auxílio da bibliografia, a qualidade através da avaliação das suas características organoléticas e outras exigências (10).

Seguidamente, este deve ser acondicionado em recipientes próprios, de acordo com a forma farmacêutica e composição, de modo a garantir a sua conservação e devidamente rotulado.

6.3 Rotulagem

No que diz respeito à rotulagem dos manipulados, estes devem estar devidamente rotulados com toda a informação necessária à sua identificação bem como o modo de utilização. Assim, no rótulo deve estar presente a identificação da farmácia e do diretor técnico, o nome do utente no caso de se tratar de uma fórmula magistral, o número de lote, a composição, o prazo de validade, o PVP, a via de administração, a posologia e alguma instrução especial em caso de necessidade, como por exemplo “agite antes de usar” (10).

6.4 Prazo de validade

O prazo de validade está definido segundo o FGP em função de vários fatores, como por exemplo a presença de água. No caso das preparações líquidas que contenham água, devem ser conservadas no frio e apresentam um prazo de utilização de 14 dias após a sua preparação. Preparações sólidas e líquidas que não contenham água e cuja substância ativa é industrializada, o prazo de validade corresponde a 25% do prazo de validade restante da substância, nunca ultrapassando os seis meses. As preparações restantes deverão ter o prazo de validade corresponde à duração do tratamento, não ultrapassando os 30 dias.

6.5 Cálculo do PVP dos manipulados (12)

O cálculo do PVP é feito com base numa fórmula pré-feita que recorre ao valor das matérias-primas, ao valor do material de acondicionamento e aos honorários. Este último não se aplica no caso das substâncias a granel

A fórmula é a seguinte: (Valor dos honorários + Valor das matérias-primas + Valor dos materiais de embalagem) $\times 1,3$ e acrescido o valor do IVA à taxa em vigor.

6.6 Preparações extemporâneas

Este tipo de preparação diz respeito às preparações feitas no momento da dispensa, apresentando-se sob a forma de pós ou grânulos que após a adição de água originam soluções ou suspensões, dependendo da solubilidade destes em água.

As preparações extemporâneas são utilizadas para garantir que as qualidades e a estabilidade das soluções sejam garantidas.

É um procedimento simples, em que é colocada inicialmente uma quantidade de água no frasco que contém o pó e posteriormente agita-se para que haja dissolução ou dispersão das partículas. Por fim, completa-se com água até ao traço de referência, volta a agitar-se até ficar homogênea.

Nas embalagens deve colocar-se algumas informações importantes, como as condições de conservação, a posologia, a data de preparação e a o prazo de validade.

7. Interação Farmacêutico-Utente-Medicamento

No ato do atendimento e da dispensa na farmácia comunitária, o farmacêutico deve ter como elemento principal, o utente para que este possa ser orientado de forma a promover a sua saúde e o seu bem-estar.

A promoção do uso racional do medicamento assim como fornecer informação ao utente sobre as consequências da não adesão à terapêutica é de extrema importância para que o utente possa usufruir das propriedades destes de modo a poder prevenir, tratar e curar determinadas doenças. Assim, o farmacêutico deve ser capaz de comunicar a informação de forma clara e explícita, utilizando uma linguagem simples, evitando termos técnicos, para que a informação possa ser transmitida ao utente de modo a que este consiga obter toda a informação necessária.

O farmacêutico não pode esquecer que todo o utente é único, e é importante conhecer um pouco deste, como a sua história, a terapêutica que já está a fazer e também deve tentar sempre compreender o ponto de vista do utente sobre a doença em questão, demonstrando empatia, positividade e otimismo em relação à situação atual do utente.

O farmacêutico deve sempre ter em consideração os princípios éticos e sociais e também o conhecimento científico. Deve ter sempre uma postura crítica no que toca à medicação prescrita ao utente, avaliando a necessidade dos medicamentos prescritos em causa. Também deve garantir que não existem interações farmacológicas graves ou outras condições que possam agravar com o uso de determinados medicamentos, bem como esclarecer modo de utilização e conservação e informar sobre a ocorrência de possíveis efeitos secundários (13).

7.1 Farmacovigilância

Devido à sua proximidade com os utentes, o farmacêutico tem um papel fundamental em promover a farmacovigilância, tendo esta como objetivo melhorar a qualidade e a segurança dos medicamentos através da deteção, registo, avaliação e prevenção das reações adversas a medicamentos (RAM) para que se possa determinar a incidência destas bem como a gravidade (14).

Durante a fase experimental/ensaios clínicos dos medicamentos, são relatados efeitos secundários que ocorrem na população em estudo, no entanto estas são as RAM mais comuns e frequentes, podendo existindo outras pouco frequentes que não foram detetadas nem identificadas.

Para que as RAM possam ser notificadas, deve-se proceder ao preenchimento de formulários em papel, utilizar o portal RAM disponibilizado no site do INFARMED (15) ou ligar diretamente para as Unidades Regionais de Farmacovigilância (16).

Para esta notificação das RAM é necessário fornecer informações como a reação adversa, o medicamento suspeito, a data de início, o lote, a duração e evolução da reação adversa, outros medicamentos que está a tomar e dados do doente. Após o envio da informação das RAM, esta é validada por uma equipa de farmacêuticos e médicos especialistas em segurança dos medicamentos para posteriormente ser enviada para a base de dados Europeia e Mundial da Organização Mundial da Saúde (OMS), respetivamente, Eudravigilance e Vigibase, para uma avaliação permanente do perfil de segurança do medicamento.

7.2 Valormed (17)

Na FRS existe, junto às portas de entrada, um contentor pertencente à Valormed. Esta é uma sociedade sem fins lucrativos que tem como responsabilidade a gestão dos resíduos de embalagens vazias e medicamentos fora do uso ou com validade ultrapassada. O farmacêutico deve explicar aos utentes que estes resíduos não devem ser descartados como os resíduos normais do quotidiano, devendo informar e incentivar os utentes a devolverem os medicamentos ou as embalagens. Este contentor é utilizado até que fique cheio, para posteriormente o farmacêutico o fechar e, recorrendo ao Sifarma, imprimir o documento com a Identificação da farmácia e o número de série do contentor para este ser assinado e proceder-se à recolha do contentor pelos fornecedores da farmácia.

7.3 Programa Troca de Seringas

O programa Troca de Seringas foi desenvolvido para prevenir infecções por vírus que possam ser transmitidos pela partilha das mesmas agulhas dentro dos grupos consumidores de drogas injetáveis. Estes podem ser o Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) e o vírus da Hepatite B e C. Assim, este programa consiste na troca de duas seringas usadas por um kit gratuito.

O kit gratuito contém duas seringas esterilizadas, duas agulhas, dois recipientes para a preparação da droga, ácido cítrico, água destilada, filtros, toalhetes desinfetantes e por fim um preservativo, para prevenir também a transmissão sexual pelos vírus acima mencionados.

As seringas usadas são colocadas num contentor próprio da farmácia para posteriormente ser recolhido o material e destruído.

8. Dispensa de Medicamentos

O ato da dispensa de medicamentos é dos mais importantes na farmácia que requer grandes responsabilidades por parte do farmacêutico. É de extrema importância o farmacêutico informar o utente acerca da posologia, do modo de administração, potenciais efeitos adversos, condições de conservação e duração do tratamento para que haja uma utilização racional do medicamento por parte do utente.

Como foi mencionado, a FRS apresenta uma população de utentes entre os 40-80 anos de idade, o que implica que os utentes de maior idade possam apresentar algumas dificuldades na compreensão da informação anteriormente referida, não excluindo outros utentes que também possam apresentar dificuldades pelos mais variados motivos.

Assim, em geral, o farmacêutico deve sempre assegurar que a informação é sempre bem transmitida, de forma clara e bem explícita, sem que restem dúvidas por parte do utente.

Muitas vezes é necessário escrever as indicações terapêuticas e a posologia nas embalagens dos medicamentos. Também é importante pedir ao utente que repita a posologia após este ser informado, para o farmacêutico ter a certeza de que a sua informação foi bem transmitida e retida.

Este ato da dispensa é algo que se aprende todos os dias, pois a cada dia aparecem novas situações na farmácia com as quais tive de lidar e saber como atuar em casos específicos.

8.1 Prescrições médicas

8.1.1 Tipos de prescrições médicas

O farmacêutico tem contato com diferentes prescrições médicas todos os dias, para isso é importante saber como tratar de cada uma delas.

Existem dois tipos principais de receitas, as manuais e as eletrônicas, podendo estas últimas serem materializadas (em papel) ou desmaterializadas.

Todas as receitas deverão possuir informações necessárias para a dispensa, como a numeração, local de prescrição, identificação do médico prescritor e do utente, entidade financeira responsável, identificação dos medicamentos utilizando Denominação Comum Internacional (DCI), forma farmacêutica, dosagem, e apresentação, posologia e duração do tratamento, participações especiais e data de prescrição (18).

As receitas eletrônicas podem ser materializadas ou desmaterializadas. Estas prescrições podem ser enviadas por meios eletrônicos, podendo ser via e-mail ou telemóvel, por mensagem, que é apresentada sob a forma de guia de tratamento com um código único da receita, um Código de Acesso e Dispensa e Código de Opção

No caso das receitas eletrônicas materializadas ainda será necessário estar na receita, a identificação do tipo de receita, a via da receita (em que nos tratamentos de longa duração possa existir necessidade de renovação), assinatura do médico prescritor e indicação da validade da prescrição e número de embalagens. Este tipo de receitas possui uma validade de 30 dias seguidos, podendo ser renovável com uma validade de 6 meses. Podem ser prescritos até 4 medicamentos distintos com 2 embalagens por medicamento (18).

Relativamente às receitas eletrônicas desmaterializadas, estas devem também conter assinatura do médico prescritor e a hora da prescrição, validade da prescrição e número de embalagens. Este número de embalagens apresenta um limite máximo consoante a duração do tratamento: duas embalagens, caso o tratamento seja de curta ou média duração, com uma validade de 60 dias ou seis embalagens, caso o tratamento seja de longa duração, com uma validade de 6 meses.

Por último, as receitas manuais apenas poderão ser utilizadas excecionalmente e deve ser assinalado um dos seguintes motivos do seu uso: falência informática, inadaptação do prescritor, prescrição ao domicílio, até 40 receitas por mês. Estas receitas devem apresentar, para além da identificação dessa exceção, o local da prescrição, a validade da prescrição, número de embalagens e identificação e assinatura do médico prescritor. Não

podem conter caligrafias diferentes nem rasuras e não podem ser prescritas utilizando lápis ou canetas diferentes (19).

A utilização da DCI fornece uma liberdade ao utente para escolher medicamentos que tenham genéricos. Também será possível o medicamento prescrito estar com o seu nome de marca no caso de o medicamento ter margem terapêutica estreita, reação adversa prévia ou continuidade de tratamento superior a 28 dias (18).

É importante referir que no caso das receitas eletrónicas desmaterializadas após a introdução da receita no sistema, este assume automaticamente os medicamentos no sistema. No caso das receitas eletrónicas materializadas e nas receitas manuais, os medicamentos têm de ser inseridos no sistema após a leitura ótica ou inserção manual do código dos medicamentos.

Na FRS, a maioria das prescrições médicas são eletrónicas desmaterializadas recebidas no telemóvel. Nestes casos o utente através da mensagem não tem acesso aos medicamentos prescritos, podendo neste caso utilizar a aplicação APP My SNS Carteira e aceder à receita em questão. Também é possível na farmácia imprimir a receita num talão.

8.2 Medicamentos sujeitos a receita médica

Segundo o estatuto do medicamento, um medicamento é considerado sujeito a receita médica quando estes possam constituir um risco para a saúde do doente sendo usados para o fim a que se destinam ou utilizados com frequência em quantidades consideráveis para outros fins aos quais se destinam. Também os medicamentos cujos efeitos adversos têm de ser estudados ou medicamentos administrados por via parentérica são sujeitos a receita médica (6).

Na dispensa dos MSRM, o farmacêutico tem a obrigação de informar sobre a existência de medicamento genérico, caso este exista, e informar qual deles é o mais barato. A farmácia deve ter, no mínimo, três medicamentos dos cinco genéricos que correspondem ao preço mais baixo do grupo homogéneo (19).

Em alguns casos é necessário contactar o médico prescriptor para esclarecer algumas dúvidas em relação ao conteúdo da prescrição.

No decorrer do meu estágio, deparei-me com algumas dificuldades nestes tipos de medicamentos. Uma das dificuldades foi conseguir saber que laboratório o utente costumava levar. Muitas vezes apenas diziam a cor da embalagem e no histórico de vendas na ficha do utente não aparecia esse medicamento.

Outra dificuldade com que me deparei foi reconhecer que medicamentos estão prescritos nas receitas manuais, uma vez que não estava familiarizado com os nomes comerciais e muitas vezes a caligrafia era impercetível, não tendo surgido esta dificuldade nas receitas eletrônicas pois a prescrição é feita no computador.

8.3 Estupefacientes e psicotrópicos

Os medicamentos cuja composição apresente substâncias designadas por estupefacientes e psicotrópicos estão sujeitos a um controlo de saída mais rigoroso e a uma legislação mais restrita, uma vez que podem ser utilizados para fins ilegais, causando dependência e tolerância. São utilizados no tratamento de várias situações: antitússico, analgésicos, ou como tratamento psiquiátrico ou oncológico.

Estas substâncias são regulamentadas pelo Decreto-Lei n.º 15/93, recentemente modificado pela Lei n.º 49/2021, e pelo Decreto Regulamentar nº 61/94. A dispensa deste tipo de medicamentos apenas pode ser feita unicamente com a apresentação de receita médica, que é similar às receitas utilizadas para outros tipos de medicamentos, com a exceção de que nestas receitas não podem ser incluídos outro tipo de medicamentos. No ato da dispensa, o Sifarma automaticamente abre a janela de preenchimento obrigatório de um conjunto de dados do adquirente e do utente.

São eles: o nome completo, a morada, o número do cartão de cidadão, a validade e a idade, incluindo também os dados do médico prescritor. Sem o preenchimento não será possível terminar a venda pois o Sifarma não deixa avançar (20).

Após ser terminada a venda, são emitidos dois talões referentes à dispensa de estupefacientes e psicotrópicos com todos os dados anteriormente referidos. Os talões servem como comprovativo da dispensa e devem ser guardados na farmácia por um período de três anos.

No início de cada mês, é gerada uma listagem de todos os medicamentos deste tipo e esta deve ser enviada ao INFARMED.

8.4 Medicamentos não sujeitos a receita médica

Os MNSRM são muitas vezes utilizados e pedidos na farmácia por iniciativa do utente e estão associados à automedicação, que consiste no alívio e tratamento de problemas de saúde passageiros e sem gravidade, sem a necessidade da intervenção do médico. Em algumas situações, é possível encontrar utentes que apenas ouviram falar que o medicamento desejado possa fazer o efeito pretendido pois foi referenciado por um conhecido que apresentou os mesmos sintomas, no entanto o problema de saúde pode ser

diferente, possuindo assim informações erradas sobre o medicamento e o seu uso, o que leva a uma automedicação possivelmente perigosa. Esta prática da automedicação sem aconselhamento por parte de um farmacêutico pode levar a consequências graves, como o agravamento de uma doença atualmente existente, reações adversas e interações medicamentosas.

O farmacêutico deve, sempre que possível, intervir e orientar o utente, colocando todas as questões necessárias para entender o problema de saúde presente e aconselhar da melhor maneira para que possa contribuir para o uso racional e adequado do medicamento. Deve perguntar os sinais e sintomas, a duração, a frequência, o local, e também deve ter sempre em conta os medicamentos que o utente esteja a tomar. Neste processo o farmacêutico deve sempre ter em conta a existência de medidas não farmacológicas e farmacológicas que possam possivelmente ser aplicadas e, se optar pela dispensa de um MNSRM, deve informar o utente o modo de administração, a duração do tratamento, as contraindicações e outras informações que considere pertinentes para que existe um uso racional do medicamento. Portanto, a dispensa destes medicamentos requer mais atenção e mais responsabilidade por parte do farmacêutico.

Em último caso, se o farmacêutico assim entender, o utente deve ser referenciado para o médico pois pode tratar-se de um problema de saúde grave.

Estes medicamentos podem ser anti-inflamatórios, anti-piréticos, analgésicos, antifúngicos, laxantes, entre outros.

Dentro deste grupo, ainda estão incluídos os medicamentos da “Terceira lista de medicamentos” que são os medicamentos não sujeitos a receita médica de dispensa exclusiva em farmácia (MNSRM-EF). A compra de medicamentos desta categoria apenas pode ser feita na farmácia e não em outros locais de venda de MNSRM, uma vez que requerem cuidados especiais devido à segurança do seu uso. As substâncias presentes nos medicamentos e que definem que este é de venda exclusiva em farmácia estão presentes na Deliberação n.º 24/CD/2014 (21).

8.5 Regimes de participação

A maioria dos medicamentos presentes na farmácia são medicamentos que estão sujeitos a regimes de participação. A existência destas participações permite que uma porção dos custos dos medicamentos seja sustentada por uma entidade, tendo o utente de pagar o restante valor em falta. Na maioria dos casos, a entidade responsável pela participação é o Serviço Nacional de Saúde (SNS). Existe também a possibilidade de o

utente usufruir de outros regimes de complementaridade e assim a comparticipação é feita pelo SNS e por um desses regimes.

Dentro dos regimes de comparticipação pelo SNS, os utentes podem usufruir de um regime geral ou de um regime excecional de comparticipação.

No regime geral de comparticipação, a percentagem da comparticipação feita pelo SNS é definida de acordo com o grupo terapêutico com medicamentos. Assim, a comparticipação do Estado é fixada de acordo com 4 escalões, ordenados de A a D por ordem decrescente de percentagem de comparticipação: escalão A, onde 90% do PVP do medicamento é comparticipado, escalão B, onde 69% do PVP do medicamento é comparticipado, escalão C, onde 37% do PVP do medicamento é comparticipado e escalão D, onde 15% do PVP do medicamento é comparticipado.

Exemplos de medicamentos integrados em cada escalão: antiparkinsónicos, antiepiléticos e medicamentos usados no tratamento do glaucoma estão presentes no escalão A, antibacterianos, anticoagulantes e diuréticos estão presentes no escalão B, ansiolíticos, medicamentos antianémicos e antiácidos estão presentes no escalão C. No escalão D podem ser incluídos medicamentos novos ou medicamentos que, por razões específicas, sejam abrangidos por um regime de comparticipação transitório (22).

Relativamente ao regime excecional, caso se aplique, a comparticipação do estado no preço dos medicamentos integrados no escalão A é acrescida 5% e nos escalões B, C e D 15%. Este acréscimo apenas é direcionado para os pensionistas cujo rendimento total anual não exceda 14 vezes o salário mínimo nacional em vigor em 2009 ou 14 vezes o valor do indexante dos apoios sociais em vigor quando este ultrapassar aquele montante.

O regime excecional também pode abranger determinadas patologias e determinados grupos de utentes. Nestes casos, o despacho ou o diploma deve ser mencionado obrigatoriamente na receita para que o regime excecional de comparticipação seja aplicado. Caso não seja mencionado, será feita apenas uma comparticipação de regime geral (23).

Relativamente aos regimes de complementaridade, estes são uma mais-valia para os utentes uma vez que os medicamentos são comparticipados pelo SNS e pelo regime, cobrindo uma maior percentagem do valor comparticipado. Nestes casos, os utentes devem apresentar o cartão de beneficiário e, se for necessário, este deve ser fotocopiado juntamente com a receita para posteriormente ser enviada ao organismo responsável pela complementaridade.

Existe ainda outros planos de comparticipação, como é o caso dos produtos utilizados na diabetes mellitus (serginas, agulhas, lancetas) que são comparticipados a 100% e as tiras de teste a 85%. Outro caso de comparticipação diz respeito aos medicamentos manipulados presentes no anexo do Despacho n.º 18694/2010 que são comparticipados a 30% (24,25).

Durante o meu estágio na FRS também tive contato com alguns medicamentos que são abrangidos por protocolos específicos dos laboratórios correspondentes a cada medicamento. É o caso do *Vesomni* ®, (Solifenacina + Tansulosina), usado no homem para tratar sintomas de armazenamento e esvaziamento do trato urinário inferior causados por problemas da bexiga e por hiperplasia benigna da próstata, e do *Betmiga*® (Mirabegron), usado para tratar sintomas de bexiga hiperativa. No ato da dispensa destes medicamentos, o Sifarma requisita a leitura ótica de um código específico que se encontra na embalagem do medicamento.

8.6 Dispensa de medicamentos hospitalares na farmácia comunitária

Existem determinados medicamentos que exigem a administração em ambiente hospitalar, uma vez que requerem uma maior monitorização dos efeitos secundários, da forma de administração e correto uso para que a terapêutica seja feita corretamente de modo a garantir a efetividade desta. Este fato faz com que alguns MSRM sejam de dispensa exclusiva em meio hospitalar, podendo também existir situações em que a farmácia hospitalar permitia a aquisição dos medicamentos pelos utentes em regimes ambulatoriais. O utente desloca-se à farmácia hospitalar e adquire os medicamentos necessários.

Devido à situação pandémica que enfrentamos, surgiram medidas excecionais para que se possa travar a propagação do vírus. Uma das medidas é a aquisição de medicamentos de dispensa em farmácia hospitalar, em regime ambulatorio, através da farmácia comunitária. Esta pode fazer um acordo com a farmácia hospitalar e assim os medicamentos são enviados para uma farmácia perto da localidade do utente para que este tenha maior facilidade de acesso e para que a deslocação ao hospital não seja necessária.

Esta aquisição deste tipo de medicamentos também pode ser feita com entrega ao domicílio (26).

Estas medidas têm várias vantagens. Para além de diminuir a propagação do vírus, faz com que exista uma maior adesão à terapêutica, uma maior facilidade na obtenção dos

medicamentos e também maior acesso à terapêutica, promovendo assim o bem-estar da população e a garantia da continuidade do tratamento.

9. Aconselhamento de dispensa de outros produtos de saúde

A farmácia comunitária também dispõe de outros produtos de saúde e estes também necessitam de aconselhamento e indicação por parte do farmacêutico. Estes produtos podem ser produtos de cosmética, produtos de higiene corporal, suplementos alimentares, produtos dietéticos para alimentação especial, medicamentos veterinários, produtos homeopáticos e dispositivos médicos

O farmacêutico deve sempre estar atualizado em relação aos produtos de saúde que se encontrem na farmácia para que possa possuir o conhecimento necessário e saber como e quando aconselhar determinado produto.

Durante o meu estágio na FRS, estes produtos foram os que mais me desafiaram pois engloba estudar todos e reunir todas as informações necessárias sobre eles para poder aconselhar aos utentes.

9.1 Produtos de cosmética e higiene corporal (27)

Segundo o Decreto-Lei n.º 189/2008 de 24 de Setembro, alterado pelo Decreto-Lei 115/2009 de 18 de Maio, um produto cosmético é “qualquer substância ou preparação destinada a ser posta em contacto com as diversas partes superficiais do corpo humano, designadamente epiderme, sistemas piloso e capilar, unhas, lábios e órgãos genitais externos, ou com os dentes e as mucosas bucais, com a finalidade de, exclusiva ou principalmente, os limpar, perfumar, modificar o seu aspeto, proteger, manter em bom estado ou de corrigir os odores corporais”.

No aconselhamento deste tipo de produtos, o farmacêutico deve ter a capacidade de perceber as necessidades do utente e escolher o melhor produto tendo sempre em conta se o problema apresentado é um simples problema estético ou é um problema que necessite de referência médica. Durante a dispensa deve sempre indicar a forma correta de utilização, a duração e outras informações que possam ser necessárias para o correto uso.

Durante o meu estágio na FRS, a maioria dos utentes pediam cremes para o rosto e também produtos para a queda de cabelo.

9.2 Suplementos Alimentares (28)

Segundo o Decreto-Lei n.º 136/2003 de 28 de junho, os suplementos alimentares são definidos como “géneros alimentícios que se destinam a complementar e ou suplementar o regime alimentar normal e que constituem fontes concentradas de determinadas substâncias nutrientes ou outras com efeito nutricional ou fisiológico. Podem apresentar-se sob a forma de cápsulas, pastilhas, comprimidos, e outras formas semelhantes, saquetas de pó, ampolas de líquido, frascos com conta-gotas e outras formas similares de líquidos”, estando estes sob o controlo da Direção-Geral da Alimentação e Veterinária (DGAV).

Na dispensa de suplementos alimentares, é importa conhecer o histórico do utente, a medicação que este faz para evitar possíveis interações, idade, alergias e doenças que apresente. Também é importante dialogar com o utente sobre a necessidade deste suplemento e quais são as suas carências e o efeito pretendido que o levou a procurar este suplemento.

Por fim, os suplementos alimentares não substituem a alimentação. Esta informação é importante referir aos utentes bem como a necessidade de existir uma alimentação equilibrada.

Muitos utentes pediram suplementos alimentares com Vitamina C com a finalidade de reforçar o sistema imunitário devido ao receio que possuíam em relação aos efeitos do vírus no organismo.

9.3 Produtos Dietéticos para Alimentação Especial

Os produtos dietéticos para alimentação especial são regulados pelo Decreto-Lei n.º 216/2008 e são definidos como “categoria de géneros alimentícios destinados a uma alimentação especial, sujeitos a processamento ou formulação especial, com a finalidade de satisfazer as necessidades nutricionais de pacientes e para consumo sob supervisão médica, destinando -se à alimentação exclusiva ou parcial de pacientes com capacidade limitada, diminuída ou alterada para ingerir, digerir, absorver, metabolizar ou excretar géneros alimentícios correntes ou alguns dos nutrientes neles contidos ou seus metabólicos, ou cujo estado de saúde determina necessidades nutricionais particulares que não géneros alimentícios destinados a uma alimentação especial ou por uma combinação de ambos” (29).

Também existem produtos dietéticos infantis. Estes são regulados pelo Decreto-Lei n.º 53/2008 aplicável às formulações destinadas a lactentes e crianças de pouca idade.

Existem diversos produtos adaptados à idade do bebé: leites, papa, farinha, entre outros (30).

A Organização Mundial de Saúde recomenda a amamentação exclusiva durante os primeiros seis meses de vida do bebé para que existe um bom crescimento, desenvolvimento e saúde.

9.4 Medicamentos Veterinários

Os medicamentos veterinários são regulados pelo Decreto-Lei n.º 148/2008 e define os medicamentos veterinários como sendo “toda a substância apresentada como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças em animais ou dos seus sintomas, ou que possa ser utilizada ou administrada no animal com vista a estabelecer um diagnóstico médico-veterinário ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas” (31).

Estes medicamentos, assim como os suplementos alimentares, são regulados e supervisionados pela DGAV.

Na FRS existem medicamentos veterinários com diferentes funções e finalidades. Os medicamentos que são dispensados com frequência são os de desparasitação interna e externa e contração.

Na dispensa deste tipo de medicamentos é preciso ter sempre atenção ao peso e à idade do animal, uma vez que existem dosagens em função do peso. Assim, na dispensa devemos sempre perguntar pela idade e peso do animal e alertar o utente para possíveis efeitos secundários que possam ocorrer e também explicar o modo de administração para que haja um correto uso do medicamento.

9.5 Medicamentos Homeopáticos

Segundo o Decreto-Lei n.º 176/2006, o medicamento homeopático é um “medicamento obtido a partir de substâncias denominadas stocks ou matérias-primas homeopáticas, de acordo com um processo de fabrico descrito na farmacopeia europeia ou, na sua falta, em farmacopeia utilizada de modo oficial num Estado membro, e que pode conter vários princípios” (6).

Na homeopatia existem dois princípios fundamentais que são o Princípio da Similitude e o Princípio da Infinitesimalidade.

O Princípio da Similitude diz respeito à utilização de substâncias que causam sintomas semelhantes à doença em pessoas saudáveis. Segundo esta teoria, são administradas

certas substâncias para estimular as defesas do organismo e para restaurar o equilíbrio, uma vez que a doença é vista como o desequilíbrio do sistema.

O princípio da infinitesimalidade diz respeito à utilização das substâncias em doses muito pequenas, utilizando diluições sucessivas na produção do medicamento.

Um exemplo de medicamento homeopático presente na FRS é a *Camilia*®. Este medicamento é utilizado para as perturbações atribuídas ao crescimento dos primeiros dentes. Neste caso é produzido por uma diluição de 9CH de uma das substâncias presentes. O “C” refere-se às diluições centesimais, em que 1C=diluição de 1:100. Portanto significa que a substância em questão, se estivesse presente no medicamento, estaria numa concentração de 1 em 100⁹.

A homeopatia está comprovada pela ciência que funciona como efeito placebo e é o oposto da relação dose-resposta que está comprovada cientificamente pela farmacologia. A existência da homeopatia e a procura por esta poderá ser um exemplo de como a falta do conhecimento e confiança na ciência pode afetar as pessoas e também a sua saúde a níveis negativos, uma vez que o problema de saúde não é tratado.

9.6 Dispositivos médicos (32)

O dispositivo médico é definido pelo Decreto-Lei n.º 145/2009 como “ qualquer instrumento, aparelho, equipamento, software, material ou artigo utilizado isoladamente ou em combinação, incluindo o software destinado pelo seu fabricante a ser utilizado especificamente para fins de diagnóstico ou terapêuticos e que seja necessário para o bom funcionamento do dispositivo médico, cujo principal efeito pretendido no corpo humano não seja alcançado por meios farmacológicos, imunológicos ou metabólicos, embora a sua função possa ser apoiada por esses meios, destinado pelo fabricante a ser utilizado em seres humanos para fins de diagnóstico, prevenção, controlo, tratamento ou atenuação de uma doença”.

Estes dispositivos são integrados em classes I (baixo risco), IIa e IIb (risco médio) e III (alto risco), tendo em conta os possíveis riscos da sua utilização no corpo humano e também da vulnerabilidade deste.

10. Serviços de saúde prestados na farmácia

A farmácia comunitária é conhecida pela maioria das pessoas como um sítio de cedência de medicamentos, no entanto outros cuidados de saúde também são prestados: determinação de peso e altura, medição da pressão arterial e também a medição de parâmetros bioquímicos, como o caso da glicémia, triglicéridos e colesterol total.

Na FRS estes testes são efetuados num gabinete específico para esse efeito, tendo este um ambiente calmo e reservado para garantir a confidencialidade do utente. Neste gabinete são medidos os triglicéridos, o colesterol total, a pressão arterial e a glicémia, utilizando aparelhos validados e calibrados para esse efeito. Também é possível medir o peso e a altura e conseqüentemente o índice de massa corporal (IMC), o índice de gordura corporal, a pressão arterial e o ritmo cardíaco com outro aparelho digital.

10.1 Medição de pressão arterial

Na FRS a medição da pressão arterial pode ser feita tanto no aparelho anteriormente referido como no gabinete com um medidor automático. Ao contrário do aparelho presente na zona de atendimento que apenas faz uma medida da pressão arterial, este medidor automático faz três medições e calcula a média delas para obter um resultado mais preciso e confiável.

O utente é convidado a entrar no gabinete e o medidor automático é programado para efetuar as três medições. Antes da medição é importante deixar o utente descansar durante pelo menos 5 minutos e perguntar se fumou ou bebeu café nos últimos 30 minutos antes, pois estes fatores podem influenciar os resultados.

De seguida o utente é deixado sozinho para que tenha privacidade e não seja afetado pela “síndrome da bata branca”, sendo esta síndrome caracterizado pelo aumento da pressão arterial dos utentes na presença de um profissional de saúde.

Após o fim da medição, os resultados são lidos e registados e é feito o aconselhamento ao utente com base nesses resultados. Caso os resultados não se enquadrem dentro dos níveis de referência, deve-se sempre perguntar ao utente se está a fazer alguma medicação e, caso a resposta seja afirmativa, deve-se perguntar se a toma dos medicamentos é feita de forma correta. Nestes casos é sempre importante o aconselhamento de medidas não farmacológicas, como a prática de exercício físico, uma alimentação saudável e equilibrada e, caso se aplica, a cessação tabágica. Pode ainda ser necessária a referenciação médica.

10.2 Glicémia capilar

O controlo da glicémia é feito através da punção capilar, utilizando uma lanceta para perfurar ligeiramente a ponta do dedo previamente desinfetada com a ajuda de álcool e algodão. De seguida a gota de sangue é retirada para uma tira específica que foi previamente inserida num aparelho digital medidor.

Antes da realização do procedimento, é importante perguntar ao utente se está em jejum e caso não esteja, há quanto tempo comeu pela última vez. Esta pergunta é fundamental para que o resultado obtido seja viável.

Após a medição, é registado o valor e é analisado por parte do farmacêutico. Seguidamente, caso os valores se encontrem fora do intervalo dos valores de referência, o farmacêutico deve encaminhar o utente ao médico para que futuras complicações não ocorram, como o aparecimento de diabetes.

10.3 Colesterol total e triglicéridos

Na FRS, a determinação do colesterol total e dos triglicéridos é feita utilizando um aparelho que utiliza a técnica espectrofotométrica, o CR3000. Com o auxílio de uma lanceta, é perfurado o dedo do utente e recolhido para um capilar que, após estar cheio, é introduzido numa cuvete que contém o reagente. De seguida deve-se agitar até que todo o sangue saia do capilar e fique presente no reagente. Posteriormente a cuvete é inserida numa zona de leitura para a realização do branco. Após a realização do branco, retira-se a cuvete, adiciona-se a enzima, e é agitada novamente para que ocorra reação. Por fim, a cuvete é colocada novamente no aparelho e é feita a determinação dos valores.

Por fim, caso os valores se encontrem fora dos valores de referência, é importante aconselhar o utente e informar que o aumento do colesterol total e dos triglicéridos podem ser fatores de risco para doenças cardiovasculares e como tal, devem implementar-se medidas como a prática de exercício físico e a adoção de uma alimentação equilibrada pobre em gorduras saturadas.

10.4 Antropometria

Na FRS a medida do peso e da altura é feita no aparelho digital presente na zona de atendimento. Este aparelho também indica o IMC, que é calculado a partir do peso e da altura e permite classificar o estado do utente como sendo abaixo do peso (IMC<18,5), normal (IMC compreendido entre 18,4-24,9), sobrepeso (IMC compreendido entre 25-29,9), e obeso, que pode ser classificado como obesidade grau I (IMC compreendido entre 30-34,9), obesidade grau II (IMC compreendido entre 35-39,9) e obesidade III ou mórbida (IMC>40).

É importante referir que nestes casos, também deve-se medir o índice de gordura utilizando o mesmo aparelho, pois a medição do IMC não tem em conta o índice de gordura, sendo esta uma limitação deste método.

Após a medida, é emitido um talão e com base nos valores anteriormente referidos, é feito o aconselhamento.

11. Processamento do receituário e faturação

É através da faturação e do processamento do receituário que a farmácia recebe o valor de todas as participações que foram feitas ao longo do mês. Assim, no início de cada mês, é feita a faturação do receituário do mês anterior.

Este é um processo que envolve análise de detalhes presentes nas receitas manuais e materializadas para que seja assegurado que as receitas possuem todos os elementos necessários e sejam aceites e não devolvidas à farmácia.

Após ser recolhida a receita durante o atendimento, é impressa na parte de trás a participação e a entidade, bem como atribuído um lote e um número a essa receita pelo Sifarma. Para além dessa informação, também está presente na parte de trás da receita os produtos e as quantidades dispensadas, a identificação da farmácia e DT. A presença desta informação deve ser conferida para garantir que a dispensa foi feita de forma correta.

No fim de cada mês, as receitas são novamente verificadas e validadas para evitar erros e são separadas e organizadas por entidades, número de lote e número de receitas. Cada lote é constituído por 30 receitas e é acompanhado por um verbete que foi previamente impresso, carimbado e assinado. Neste verbete está presente o resumo da informação do

lote e deve conter o nº. do lote, a quantidade de receitas, o valor a pagar pela entidade que participa, entre outros.

Posteriormente é emitida a relação de resumo de lotes que apresenta todos os verbetes de lote emitidos para uma determinada entidade e a fatura dos medicamentos desse mês que contém o que cada entidade deverá pagar à farmácia no que toca às participações. Estes documentos devem ser carimbados e rubricados para depois serem enviados às entidades responsáveis.

Dentro do receituário podemos dividir entre parte correspondente ao SNS e parte correspondente aos restantes organismos participantes. No que diz respeito à parte do receituário correspondente ao SNS, o envio desta é feito para o Centro de Conferências de faturas da Maia enquanto que a parte correspondente aos restantes organismos é feito para a Associação Nacional de Farmácias (ANF) que terá um papel intermediário pois é esta associação que, após conferir o receituário, fornece à farmácia o valor referente à participação dos medicamentos.

12. Covid-19 (33,34)

A Covid-19 é o nome dado à doença provocada pelo novo coronavírus SARS-CoV-2 que pode provocar infeção respiratória. Este vírus foi detetado pela primeira vez em humanos na cidade de Wuhan, no final de 2019. Os sintomas mais frequentes associados à infeção são: febre (temperatura superior a 38°C), tosse, dor de cabeça e dor de corpo, dificuldade respiratória e perda total ou parcial do olfato e paladar.

Este vírus transmite-se através de gotículas respiratórias produzidas por pessoas infetadas quando falam, espirram ou tosse e podem ser inaladas por pessoas que se encontram a menos de 2 metros de distância. Também se pode transmitir através do contato das mãos com uma superfície contaminada pelo vírus e, de seguida, com o contato das mãos com a boca, nariz ou olhos.

Assim, para que haja um funcionamento seguro na farmácia, estas tiveram de adaptar-se com novas estratégias para impedir a disseminação e o contágio pelo vírus.

12.1 Funcionamento da farmácia

Como em todas as farmácias, a FRS possui uma equipa de trabalho sem a qual o bom funcionamento desta não seria possível.

Desde a chegada do vírus SARS-CoV-2, o mundo inteiro teve de adaptar-se a uma nova realidade quotidiana muito diferente daquela a que estava habituado, incluindo Portugal. Este vírus que originou a situação pandémica em que nos encontramos obrigou a que houvesse drásticas mudanças nas nossas vidas, levando a uma readaptação dos nossos comportamentos e também da forma como processamos e agimos em determinadas situações.

A FRS está equipada e preparada para que a disseminação do vírus se minimize ao máximo: barreiras físicas entre o utente e o farmacêutico, barreiras físicas entre os pontos de atendimento, álcool-gel à entrada da farmácia e em cada posto de atendimento e também no armazém e o uso obrigatório de máscara por parte dos utentes e também da equipa.

É importante voltar a mencionar que a faixa etária da população que frequenta a FRS é entre os 40 e 80 anos de vida, o que desde já os tornam mais suscetíveis e com maior probabilidade de sofrerem graves consequências caso adquiram o vírus. Muitas vezes são utentes com algum problema de saúde crónico, tornando-os também mais suscetíveis.

Durante o meu estágio senti a necessidade de estar continuamente informado em relação ao vírus, à sua incidência, as variantes que surgiam e também às vacinas e ao processo de vacinação, uma vez que muitos utentes abordavam-me e perguntavam-me qual era a minha opinião relativamente à vacinação, pois estavam com receio dos efeitos secundários. Também assisti a alguns atendimentos em que o utente pede ao farmacêutico para dispensar Ivermectina ou Colchicina sem receita médica, no entanto a dispensa não aconteceu.

Assim, o farmacêutico é um profissional de saúde no qual os utentes confiam e é importante aconselhar da melhor forma para que os utentes confiem e percebam a informação que queremos transmitir, para eles também se sentirem seguros e calmos.

12.2 Dispensa de Autoteste para despiste à Covid-19

Para que haja um maior despiste à doença e também maior facilidade de acesso, foi estabelecido um regime excecional e temporário para a introdução no mercado de autotestes rápidos de antígeno do SARS-CoV-2, de acordo com a Portaria n.º 56/2021 de 12 de março, para que possa ser feito por pessoas que não tenham qualificações formais numa área relevante dos cuidados de saúde nem num domínio médico (35).

Durante o meu estágio na FRS, dispensei autotestes da *Genrui* ® que possuem dentro da caixa 1 cassete de teste, 1 tubo de extração da amostra, 1 zaragatoa descartável, 1 saco para resíduos e 1 folheto informativo. Estes testes destinam-se a extrair a amostra presente nas paredes internas da narina.

Na dispensa destes autotestes, o aconselhamento também é fundamental para que o utente adquira os conhecimentos necessários à autotestagem, como o local de destino da zaragatoa, quantidade de gotas a colocar na cassete, entre outros.

A embalagem do autoteste possui todas as informações necessárias para que o autoteste seja bem feito, assim como os possíveis resultados lidos na cassete em que: se apenas existir uma linha no controlo (C), significa que o Antígeno SARS-CoV-2 não foi detetado, se existir uma linha no controlo (C) e na linha de teste (T), o antígeno foi detetado. Todas os outros resultados que possam existir (linha T apenas presente ou nenhuma linha visível), é necessário repetir novamente o teste com uma nova cassete uma vez que este é considerado inválido.

Deve ainda aconselhar-se o utente caso o teste tenha resultado positivo, com as duas linhas presentes, este deve dirigir-se para casa e contactar o Serviço Nacional de Saúde 24 (SNS24).

12.3 “Programa de testagem CVP- Ensino Superior” na Universidade da Beira Interior

O “Programa de testagem CVP- Ensino superior” decorreu aproximadamente 1 mês na Universidade da Beira Interior e tinha como objetivo testar os alunos, docentes e funcionários presentes na Universidade. Esta atividade gratuita e voluntária, feita em articulação com a Cruz Vermelha Portuguesa (CVP), permitia testar as pessoas para que o vírus pudesse ser detetado a fim de impedir a disseminação no regresso às aulas.

Este programa de testagem foi proposto aos finalistas do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) e também do Mestrado Integrado em Medicina (MIM) para que se pudesse formar uma equipa de apoio técnico à testagem. Esta equipa também possuía um supervisor e também apoio administrativo.

Durante a participação da testagem pude ter contato com a realidade atual da pandemia prestando auxílio para que o regresso das aulas seja feito em segurança. Assim, tive oportunidade de estar presente no registo, tratamento e validação de dados, que era a primeira etapa antes da testagem, na zona da recolha e preparação da amostra, e também no processamento e registo do teste.

12.3.1 Registo, tratamento e validação de dados

Antes de se dar início à testagem, o registo, tratamento e validação dos dados era a primeira etapa.

Os alunos do MICF e MIM eram responsáveis pela receção de todas as pessoas que pretendessem realizar o rastreio. Estas dirigiam-se à mesa onde os alunos estavam para proceder ao preenchimento de um formulário com os dados pessoais de cada voluntário, como o nome, o número do documento de identificação, o número de identificação fiscal e o número de utente SNS. Nesta fase os alunos respondiam a todas as questões que pudessem surgir em relação ao rastreio bem como forneciam informações em relação à testagem, ao procedimento e também à comunicação do resultado.

12.3.2 Preparação, recolha e processamento

Após os dados estarem todos preenchidos e verificados, os alunos dirigiam-se à sala de testagem. Nessa sala os alunos enchiam os tubos de extração com um líquido tampão até um determinado nível que estava inscrito no tubo, etiquetavam com o número do teste e colocavam num suporte. De seguida procedia-se à recolha através de esfregação nasofaríngeo com o auxílio de uma zaragatoa. Esta colheita do exsudado da nasofaringe era feito por profissionais devidamente qualificados ou por finalistas do MIM.

Seguidamente era feito o processamento, onde cada tubo etiquetado era entregue aos alunos da zona de processamento. Estes colocavam uma etiqueta correspondente ao tubo na cassette de teste, eram colocadas 5 gotas na zona destinada para esse efeito e registava-se a hora a que devia ser lido o resultado.

12.3.2 Leitura e comunicação do resultado

A leitura do resultado era feita 15 minutos após a sua realização. Assim como foi mencionado, a leitura do teste era feita na presença de linhas nos dois locais possíveis: apenas uma linha de controlo correspondia a um resultado negativo/ não detetável, duas linhas (uma de controlo e uma linha de teste) ambas presentes em simultâneo correspondia a um resultado positivo/ detetável. Caso a linha de controlo não estivesse presente, o teste teria de ser feito novamente pois é considerado inválido.

A pessoa era contactada para tomar conhecimento do resultado:

-Se o resultado do teste fosse negativo, um e-mail era enviado para a pessoa no final do dia.

-Se o resultado do teste fosse positivo, a pessoa era contactada imediatamente para repetir o teste ou para ser encaminhada para a realização de um teste *polymerase chain reaction* (PCR) de modo a confirmar o resultado.

Por fim, os dados pessoais das pessoas que foram realizar o teste bem como o resultado eram introduzidos num documento Excel que continha também o teste realizado e o lote. A informação era enviada à CVP para que posteriormente esta enviasse a informação ao Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica (SINAVE).

É de referir que o teste rápido para a deteção do antigénio do SARS-CoV-2 em amostras de esfregaço nasofaríngeo usado foi o *Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device (Nasopharyngeal)* da marca *Abbott®*, apenas sendo usado para uso profissional.

13. Conclusão

O estágio em farmácia comunitária corresponde a uma das últimas etapas para a conclusão do curso e foi bastante importante para ter contato com a realidade da profissão e para poder aplicar todos os meus conhecimentos adquiridos ao longo do curso.

A minha estadia na FRS permitiu-me compreender o funcionamento das farmácias comunitárias e o papel do farmacêutico cuja função não se resume apenas à dispensa de medicamentos, uma vez que este está cada vez mais focado no utente, nas relações de proximidade e confiança com este para que exista um acompanhamento próximo e a promoção do uso seguro e racional do medicamento.

A sociedade reconhece cada vez mais que o farmacêutico é o especialista do medicamento e deve sempre proporcionar serviços com boa qualidade incluindo a intervenção

personalizada, que nos aproxima do utente e possibilita ouvir e dialogar com este para que possa existir uma zona de conforto e desabafo para o utente.

Como a farmácia é muitas vezes o primeiro local onde as pessoas recorrem quando têm um problema de saúde, todos os dias são desafiantes e obrigam a estar constantemente atualizado para poder enfrentar as mais variadas situações do dia-a-dia, uma vez que lidar com a saúde pública traz grandes responsabilidades.

A equipa da FRS recebeu-me de braços abertos com muita simpatia para que eu pudesse finalizar esta etapa do curso e transmitiram-me os conhecimentos necessários que terei comigo para o exercício futuro da profissão farmacêutica, mostrando-me que a farmácia não se resume apenas à zona de atendimento, pois existe um grande trabalho no *back office* que eu não conhecia.

Assim, agradeço a toda a equipa pela atenção e disponibilidade e também por terem dado o seu melhor para que a minha estadia fosse passada da melhor maneira possível.

14. Bibliografia

1. Ordem dos Farmacêuticos: farmácia comunitária. Acedido a 10/7/2021
<https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
2. INFARMED - Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de Agosto . Legislação Farmacêutica Compilada
3. Conselho Nacional da Qualidade, O.d.F.- Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia comunitária. 2015.
4. Deliberação n.º 1502/2014, de 3 de julho- Apresenta o regulamento das áreas mínimas das farmácias
5. Ordem dos Farmacêuticos: desenvolvimento profissional contínuo. Acedido a 11/7/2021
<https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/formacao-continua/desenvolvimento-profissional-contiuo/>
6. Decreto-Lei nº176/2006, de 30 de agosto- Estatuto do medicamento
7. Decreto-Lei n.º 97/2015, de 1 de junho. “Procede à criação do Sistema Nacional de Avaliação de Tecnologias de Saúde”.
8. Portaria n.º 195-C/2015, de 30 de junho. “Estabelece as regras e procedimentos de formação, alteração e revisão dos preços dos medicamentos sujeitos a receita médica e medicamentos não sujeitos a receita médica comparticipados, bem como as respetivas margens de comercialização”.
9. Lei n.º 25/2011, de 16 de junho- “Estabelece a obrigatoriedade da indicação do preço de venda ao público (PVP) na rotulagem dos medicamentos”.
10. Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho- “Aprova as boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados em farmácia de oficina e hospitalar” .
11. Decreto-Lei n.º 95/2004- “Regula a prescrição e a preparação de medicamentos manipulados”.
12. Portaria n.º 769/2004, de 1 de julho. “Estabelece que o cálculo do preço de venda ao público dos medicamentos manipulados por parte das farmácias é efetuado com base no valor dos honorários da preparação, no valor das matérias-primas e no valor dos materiais de embalagem”.

13. Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos- Acedido a 13/7/2021
<https://www.ceic.pt/documents/20727/38736/C%C3%B3digo+Deontol%C3%B3gico+da+Ordem+dos+Farmac%C3%A8uticos/0e2861ff-ab1f-4368-b6b8-ed097ba4eda3>
14. Farmacovigilância – INFARMED- Acedido a 13/7/2021
<https://www.infarmed.pt/web/infarmed/faq>
15. Portal RAM- INFARMED- Acedido a 14/7/2021
<https://www.infarmed.pt/web/infarmed/portalam>
16. Sistema de Farmacovigilância – Contactos- INFARMED. Acedido a 14/7/2021
<https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/farmacovigilancia/sistema-de-farmacovigilancia>
17. Valormed- Quem somos. Acedido a 14/7/2021
<http://www.valormed.pt/paginas/2/quem-somos/>
18. Normas relativas à dispensa de medicamentos e produtos de saúde- Infarmed. Acedido a 15/7/2021
https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Normas_Dispenza/4c1aea02-a266-4176-b3ee-a2983bdf790
19. Portaria n.º 224/2015. “Estabelece o regime jurídico a que obedecem as regras de prescrição e dispensa de medicamentos e produtos de saúde e define as obrigações de informação a prestar aos utentes”.
20. Decreto-Lei n.º 15/93. “Revê a legislação de combate à droga”.
21. Deliberação n.º 24/CD/2014. “Aprova o Regulamento dos medicamentos não sujeitos a receita médica de dispensa exclusiva em farmácia”.
22. Portaria n.º 195-D/2015. “Estabelece os grupos e subgrupos farmacoterapêuticos de medicamentos que podem ser objeto de comparticipação e os respetivos escalões de comparticipação”.
23. Decreto-Lei n.º 129/2009. “Estabelece o regime de comparticipação do Estado no preço dos medicamentos”.
24. Portaria n.º 35/2016. “Estabelece o regime de comparticipação do Estado no preço máximo dos reagentes (tiras-teste) para determinação de glicemia, cetonemia e

- cetonúria e das agulhas, seringas, lancetas e de outros dispositivos médicos para a finalidade de automonitorização de pessoas com diabetes, a beneficiários do Serviço Nacional de Saúde “.
25. Despacho n.º 18694/2010 “Estabelece as condições de comparticipação de medicamentos manipulados e aprova a respetiva lista”.
 26. Despacho n.º 4270-C/2020, de 7 de abril. “Determina as medidas de carácter excecional e temporário de fornecimento de medicamentos dispensados por farmácia hospitalar em regime de ambulatório, a pedido do utente, através da dispensa em farmácia comunitária ou da entrega dos medicamentos no domicílio”.
 27. Decreto-Lei n.º 189/2008. “Estabelece o regime jurídico dos produtos cosméticos e de higiene corporal”.
 28. Decreto-Lei n.º 136/2003 de 28 de junho.
 29. Decreto-Lei n.º 216/2008. “Alimentos dietéticos destinados a fins medicinais específicos.”
 30. Decreto-Lei n.º 53/2008. “Géneros alimentícios para utilização nutricional especial que satisfaçam os requisitos específicos relativos aos lactentes e crianças de pouca idade saudáveis e destinados a lactentes em fase de desmame e a crianças de pouca idade em suplemento das suas dietas e ou adaptação progressiva à alimentação normal”.
 31. Decreto-Lei n.º 148/2008- Regula os medicamentos Veterinários.
 32. Decreto-Lei n.º 145/2009. “estabelece as regras a que devem obedecer a investigação, o fabrico, a comercialização, a entrada em serviço, a vigilância e a publicidade dos dispositivos médicos e respetivos acessórios “.
 33. SNS24- Doenças infecciosas: covid-19. Acedido a 20/9/2021
<https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-infecciosas/covid-19/>
 34. SNS24- Doenças infecciosas: transmissão da covid-19. Acedido a 20/9/2021
<https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-infecciosas/covid-19/transmissao/>
 35. Portaria n.º 56/2021. “Estabelece um regime excecional e temporário para a realização em autoteste de testes rápidos de antigénio, destinados, pelos seus fabricantes, a serem realizados em amostras da área nasal anterior interna”.