



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

André Filipe Santos Ribeiro

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Biotecnologia Aplicada à Doença de Parkinson: Estratégias de Terapia Génica” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Ângela Pereira, Doutora Marília João Rocha e do Professor Doutor Luís Pereira de Almeida apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Julho de 2019



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

André Filipe Santos Ribeiro

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Biotecnologia Aplicada à Doença de Parkinson: Estratégias de Terapia Génica” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, da Dra. Ângela Pereira, Doutora Marília João Rocha e do Professor Doutor Luís Pereira de Almeida apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Julho 2019

Eu, André Filipe Santos Ribeiro, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2014205765 declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Biotecnologia Aplicada à Doença de Parkinson: Estratégias de Terapia Génica” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 8 de julho de 2019.

André Filipe Santos Ribeiro

(André Filipe Santos Ribeiro)

## **Agradecimentos**

Chegando ao final deste percurso de desenvolvimento profissional e pessoal que culminou com a realização desta monografia, não poderia deixar de agradecer a todos os que contribuíram para que esta etapa se tornasse possível. Assim desde já, quero expressar os meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que me acompanharam nesta jornada.

Ao meu orientador, o Professor Doutor Luís Pereira de Almeida, a orientação que me proporcionou, pela disponibilidade, auxílio e suporte científico.

À Doutora Marília Rocha e a toda a equipa dos Serviços Farmacêuticos do CHUC pela forma como me acolheram e pelos ensinamentos que me transmitiram.

À Dra. Ângela Pereira e à equipa da farmácia Guardiano pela simpatia, confiança depositada em mim e pelo crescimento profissional que me proporcionaram.

Aos meus pais e irmão, pelo apoio basilar, por sempre me acompanharem, pela paciência e compreensão e por sempre me apoiarem de forma incondicional.

Aos meus amigos pelo companheirismo e apoio mútuo.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e aos seus docentes pela preparação que me proporcionaram que contribuiu de forma impar para a minha formação académica.

Um bem haja a todos.

*“Quem nós somos não pode ser separado de onde viemos”*

**Malcolm Gladwell**

# Índice

## Parte I

<b>Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária</b> .....	6
Lista de Abreviaturas.....	7
1. Introdução.....	8
2. Análise SWOT.....	9
2.1. Forças.....	10
2.1.1. Equipa Técnica.....	10
2.1.2. <i>Backoffice</i> .....	10
2.1.3. Autonomia nas tarefas.....	11
2.1.4. <i>Marketing</i> farmacêutico.....	11
2.1.5. Aconselhamento farmacêutico.....	12
2.2. Fraquezas.....	12
2.2.1. Nome comercial dos medicamentos.....	12
2.2.2. Alterações de preço e das embalagens dos medicamentos.....	13
2.2.3. Receitas médicas manuais.....	13
2.3. Oportunidades.....	13
2.3.1. Formações.....	13
2.3.2. Medição de parâmetros de saúde.....	14
2.3.3. Preparação de manipulados.....	14
2.3.4. Novo módulo de atendimento do SIFARMA.....	14
2.4. Ameaças.....	15
2.4.1. Medicamentos esgotados.....	15
2.4.2. Espaços de venda de MNSM.....	15
3. Casos Práticos.....	16
Conclusão.....	17
Referências Bibliográficas.....	18

## Parte II

<b>Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar</b> .....	19
Lista de Abreviaturas.....	20
Introdução.....	21
1. A Farmácia Hospitalar e os Serviços Farmacêuticos.....	22
2. Análise SWOT.....	22
2.1. Forças.....	23
2.1.1. Ambulatório.....	23
2.1.2. Caderno do estagiário.....	23
2.1.3. Setor da distribuição.....	24
2.1.4. Setor da farmacotecnia.....	24
2.2. Fraquezas.....	25

2.2.1. Contacto com o doente.....	25
2.2.2. Duração do estágio .....	25
2.2.3. Plano curricular de MICF .....	25
2.3. Oportunidades.....	26
2.3.1. Formações .....	26
2.3.2. Apresentações de trabalhos e do caso clínico.....	26
2.3.3. Comunicação entre profissionais de saúde .....	26
2.3.4. Farmácia clínica.....	27
2.3.5. Radiofarmácia.....	27
2.4. Ameaças .....	27
2.4.1. Reduzida oferta de emprego em FH .....	27
2.4.2. Centralização dos Serviços Farmacêuticos dos CHUC nos HUC.....	28
Conclusão.....	29
Referências Bibliográficas.....	30
Anexos .....	31
Anexo 1 – Cronograma de estágio .....	31
Anexo 2 – Caderno do estagiário .....	32
Anexo 3 – Caso Clínico.....	36
<b>Parte III</b>	
<b>Biotecnologia Aplicada à Doença de Parkinson: Estratégias de Terapia Génica.....</b>	<b>46</b>
Lista de Abreviaturas.....	47
Resumo .....	48
Abstract.....	49
1. Introdução .....	50
2. A doença de Parkinson.....	51
2.1. Epidemiologia .....	51
2.2. Fisiopatologia .....	51
2.3. Características clínicas.....	52
2.4. Tratamento.....	53
2.5. Fatores de risco e hereditariedade.....	54
2.6. Modelos de doença de Parkinson .....	55
3. A terapia génica aplicada ao tratamento da doença de Parkinson.....	57
3.1. Libertação de genes mediada por vetores virais .....	58
3.1.1. Terapias sintomáticas.....	61
3.1.2. Terapias neuro-restaurativas.....	66
3.2. Interferência de RNA.....	72
4. Patentes.....	73
5. Conclusão.....	76
6. Referências Bibliográficas.....	77

# **Parte I**

## **Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária (Farmácia Guardiano)**

**Estágio orientado pela Dra. Ângela Pereira**

## **Lista de Abreviaturas**

**DCI** - Denominação Comum Internacional

**FFUC** - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

**FG** - Farmácia Guardiano

**MICF** - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**MNSRM** - Medicamento Não Sujeito a Receita Médica



## I. Introdução

No âmbito da unidade Estágio Curricular que se encontra inserida no plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), realizei entre 3 de março e 7 de junho de 2019 um estágio na Farmácia Guardiano (FG), sob a orientação da Dra. Ângela Pereira, o qual culminou na elaboração desta análise SWOT. O estágio em farmácia comunitária no quinto ano é de extrema importância dado que permite integrar e aplicar todos os conhecimentos interiorizados ao longo da minha formação bem como aprofundá-los.

A FG está localizada na Praceta Luís de Camões na Marinha Grande, distrito de Leiria, sendo a Dra. Ângela Pereira a proprietária e a diretora técnica. A farmácia foi remodelada há alguns anos, e o espaço encontra-se distribuído por dois pisos. No rés-de-chão encontra-se a zona de atendimento que tem um sistema de senhas eletrónico que apresenta a ordem num ecrã e faz a chamada por voz de forma a facilitar a organização e gerenciamento dos utentes. Tem também o espaço de *backoffice* e armazém, e um gabinete para a realização de serviços farmacêuticos. No 1º andar encontra-se o gabinete para as consultas de nutrição e formação do pessoal, o laboratório para preparação de manipulados, o gabinete dos colaboradores, o gabinete administrativo, outro espaço de armazém, uma copa e as instalações sanitárias. Quanto ao ambiente, a farmácia é bastante iluminada por luz natural e extremamente acolhedora, estando bem organizada por categorias de produtos e por marcas.

A população que a farmácia abrange é bastante diversificada ao nível da faixa etária, classes profissionais e classes sociais, uma vez que nas proximidades existem escolas, um centro de saúde, superfícies comerciais e bastantes indústrias com destaque para a indústria vidreira e de moldes e plásticos.

A farmácia coloca à disposição da população vários serviços: entrega ao domicílio, preparação individualizada da medicação, consulta farmacêutica, determinação de parâmetros analíticos, nutrição, audiologia, medicamentos manipulados, administração de vacinas e injetáveis, marcação de exames, aconselhamento ao viajante, rastreios, entre outros. A FG é uma farmácia dinâmica e empreendedora tanto a nível social e ambiental como a nível de inovação. No domínio ambiental integra o projeto de recolha de medicamentos fora do prazo pela Valormed e o projeto de recolha de radiografias. No domínio social integra o projeto “Medicamento Solidário”, recolhendo medicamentos dentro do prazo de validade para posterior entrega aos utentes carenciados inscritos no protocolo com a farmácia. Já no domínio da inovação, a farmácia integra um projeto piloto, tendo implementado o novo módulo de atendimento do SIFARMA.

O horário de funcionamento é de segunda-feira a sexta-feira, das 9h até às 20h, e sábado das 9h até às 13h, estando aberta 24h no dia de serviço, que é rotatório com as outras farmácias da cidade da Marinha Grande.

Quanto aos recursos humanos da farmácia estes encontram-se descritos na Tabela I.

Nesta análise SWOT é feita uma análise do estágio que realizei nesta farmácia. O estágio marca assim a transição de um ensino preparatório para um ensino em contexto de trabalho real, preparando para a entrada no mercado de trabalho.

**Tabela I:** Recursos humanos da Farmácia Guardiano.

<b>Nome</b>	<b>Categoria Profissional</b>
Dra. Ângela Pereira	Diretora Técnica
Dra. Vera Alves	Farmacêutica Adjunta Substituta
Dra. Dânia Pereira	Farmacêutica
Dra. Joana Gaspar	Farmacêutica
Dr. Jorge Pedrosa	Farmacêutico
Guida Morganho	Técnica Auxiliar de Farmácia
Tânia Joaquim	Técnica Auxiliar de Farmácia
Rui Santos	Administrativo
Francisco Guardiano	Administrativo
Maria Conceição João	Auxiliar de limpeza

## **2. Análise SWOT**

A análise SWOT tem como objetivo identificar os pontos fortes (*Strengths*) e fracos (*Weakness*) de uma organização bem como as oportunidades (*Opportunities*) e ameaças (*Strengths*) no ambiente. Os pontos fortes e fracos são identificados por uma avaliação interna da organização enquanto as oportunidades e ameaças são através de uma avaliação externa. Após essa recolha e sistematização, são desenvolvidas estratégias com a finalidade de aproveitar os pontos fortes, eliminar as fraquezas, explorar as oportunidades e combater as ameaças (Dyson, 2004).

**Tabela 2:** Análise SWOT – Principais forças, fraquezas, oportunidades e ameaças.

<b>Forças</b>	<b>Fraquezas</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Equipa Técnica</li><li>• <i>Backoffice</i></li><li>• Autonomia nas tarefas</li><li>• Marketing farmacêutico</li><li>• Aconselhamento farmacêutico</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Nome comercial dos medicamentos</li><li>• Alterações de preço e das embalagens dos medicamentos</li><li>• Receitas médicas manuais</li></ul>
<b>Oportunidades</b>	<b>Ameaças</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Formações</li><li>• Medição de parâmetros de saúde</li><li>• Preparação de manipulados</li><li>• Novo módulo de atendimento</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Medicamentos esgotados</li><li>• Espaços de venda de MNSRM</li></ul>

## **2.1. Forças**

### **2.1.1. Equipa Técnica**

A equipa técnica da FG é uma equipa bastante dinâmica, simpática, bem-disposta e que dá o seu melhor todos os dias para proporcionar o melhor serviço aos utentes. Assim, a minha integração na equipa foi rápida, tendo todos se mostrado disponíveis para me ensinar, esclarecer dúvidas e auxiliar no que eu precisasse, tendo eu rapidamente entrado na dinâmica de trabalho da farmácia.

Cada elemento tem funções e responsabilidades específicas, o que permite uma gestão do trabalho bastante otimizada. Ao estarem bem definidas as responsabilidades de cada elemento, é uma mais-valia quer para o bom funcionamento da farmácia quer para o estagiário que pode orientar a sua aprendizagem em função dos profissionais, permitindo uma aprendizagem mais individualizada. Por outro lado, o espírito de entreatajuda da equipa permite também aprender diferentes abordagens para desempenhar determinada tarefa e ver outras perspetivas de trabalho, e assim, possibilitou-me otimizar métodos de trabalho.

### **2.1.2. *Backoffice***

As tarefas de *backoffice* foram uma parte importante do estágio que me permitiu familiarizar com os diferentes medicamentos e produtos de saúde e interiorizar a organização e disposição dos produtos na farmácia. Também possibilitou associar os nomes dos medicamentos e princípios ativos à imagem visual das embalagens, o que é bastante útil uma

vez que muitos utentes, aquando do atendimento, explicam as características da embalagem como forma de comunicação para que sejam dispensadas as embalagens dos laboratórios que estão habituados a adquirir.

Ao nível das tarefas de *backoffice*, desempenhei múltiplas tarefas como dar entrada dos produtos no *stock*, arrumação de produtos e reposição de *stocks*, contagem física de produtos, conferência de prazos de validade, efetuar o procedimento para envio dos contentores da Valormed, efetuar a dispensa de receitas e produtos de saúde para lares de idosos, conferência de receituário, efetuar devoluções a fornecedores e efetuar transferências para a farmácia Coelho que pertence à mesma gerência. Também tive oportunidade de aprender a realizar o fecho de receituário e a gestão de psicotrópicos e estupefacientes.

Ao efetuar estas tarefas, também pude compreender melhor o funcionamento interno de uma farmácia em vários domínios, como por exemplo encomendas, preços e fornecedores. A gestão de encomendas permitiu-me ainda compreender o sistema de distribuição farmacêutica nacional e as relações comerciais com os fabricantes.

### **2.1.3. Autonomia nas tarefas**

Desde o começo do estágio foi-me dada bastante autonomia na realização das tarefas sendo que progressivamente, à medida que ia evoluindo e dominando determinada tarefa, ia começando a aprender e aprofundar novas tarefas o que levou a que a certa altura do estágio eu próprio fosse responsável por determinadas tarefas, fazendo parte integrante da equipa. Este foi um ponto muito positivo, uma vez que me permitiu consolidar e otimizar procedimentos bem como fazer parte da dinâmica de trabalho de uma farmácia, preparando-me para o mercado de trabalho.

### **2.1.4. Marketing farmacêutico**

O *marketing* é o processo de estabelecer e manter relações de troca que sejam benéficas quer para clientes quer para o grupo de interesse (Nickels; Wood, 1997). Na FG várias estratégias eram implementadas de forma a promover os produtos bem como dar a conhecer as novidades. Estas estratégias de marketing são ferramentas importantes para motivar e modelar a decisão do consumidor para a compra de produtos de saúde. Assim, pude participar na organização dos lineares, reorganização do espaço e das gôndolas, colocação de produtos em destaque em locais estratégicos da farmácia, colocação de *testers* dos novos produtos e de material informativo. Também campanhas promocionais promovidas pelas marcas eram desenvolvidas de forma a estimular as vendas dos seus produtos, o que constitui

uma vantagem quer para a farmácia quer para o utente. Deste modo pude colocar em prática os conhecimentos que aprendi nas unidades curriculares de Organização e Gestão Farmacêutica e Marketing e Comunicação.

Ao longo do tempo de estágio, ao realizar a reposição de *stocks* bem como no atendimento, verifiquei que quando estas ações eram realizadas, aumentavam as vendas dos produtos de interesse que tinham sido alvo de alguma atividade promocional, constatando assim, a sua utilidade para potenciar as vendas de determinados produtos.

### **2.1.5. Aconselhamento farmacêutico**

O aconselhamento farmacêutico foi sem dúvida um dos pontos fortes deste estágio, pois permitiu colocar em prática os conhecimentos aprendidos ao longo de toda a minha formação na FFUC, bem como aprender, melhorar e aprofundar conhecimentos sobre os mais variados medicamentos e produtos de saúde. Por outro lado, também permitiu agilizar o raciocínio e a associação dos sintomas dos utentes aos medicamentos e produtos a aconselhar.

A aprendizagem em contexto de atendimento é extremamente importante, pois permite ir adquirindo conhecimentos de forma gradual à medida que os casos iam surgindo ao balcão. Outra vantagem deste tipo de aprendizagem é o contacto com o doente, pelo que se pode associar os sintomas que o doente se queixa aos sinais visíveis como a expressão facial, o modo como o utente se desloca e comunica, entre muitos outros aspetos, como por exemplo a visualização de picadas de insetos ou lesões/alterações na pele ou na língua.

## **2.2. Fraquezas**

### **2.2.1. Nome comercial dos medicamentos**

Ao longo do curso, a abordagem relacionada aos nomes dos medicamentos é bastante centrada nos princípios ativos, o que é uma mais-valia atualmente visto que a prescrição médica desde 2012 é efetuada pela Denominação Comum Internacional (DCI) (Administração Central Do Sistema De Saúde, 2014). Porém no início do estágio senti alguma dificuldade em associar os princípios ativos ao nome comercial, o que era necessário para fazer a arrumação em local próprio dos psicotrópicos e estupefacientes e a arrumação de alguns medicamentos genéricos que eram arrumados nas gavetas na sequência do nome de marca.

Esta dificuldade foi sendo ultrapassada com o passar do tempo, através da realização da receção das encomendas e da arrumação e reposição de *stocks* e durante o próprio atendimento ao público.

### **2.2.2. Alterações de preço e das embalagens dos medicamentos**

Durante a realização da receção de encomendas fui-me apercebendo que os preços de muitos medicamentos iam sendo alterados com alguma frequência, o que leva a que no momento de dar a entrada dos produtos no *stock* se tenha de ter uma atenção redobrada na verificação dos preços marcados na embalagem para que as alterações sejam registadas a nível informático, de forma a prevenir futuros inconvenientes ao balcão com os utentes. Esta constante atualização do preço dos medicamentos é um aspeto negativo para o setor das farmácias, pois pode levar a conflitos que mesmo após solucionados, causam a perda de confiança do utente.

Também fui reparando que várias empresas alteravam a aparência e algumas até mesmo a dimensão das embalagens, o que também é um fator que gera alguma confusão nomeadamente ao nível dos utentes mais idosos que muitas vezes apenas reconhecem a sua medicação habitual pela aparência das embalagens.

### **2.2.3. Receitas médicas manuais**

A prescrição médica de receitas manuais embora não seja tão comum quanto no passado, ainda é usada nomeadamente quando há falência do sistema informático, inadaptação fundamentada do prescritor (previamente confirmada e validada anualmente pela respetiva Ordem Profissional), a prescrição é no domicílio ou noutras situações até um máximo de 40 receitas médicas por mês (Ministério da Saúde, Portaria N.º 224/2015). No atendimento, quando surgiam receitas manuais inicialmente era complicado perceber os medicamentos prescritos, pois além da letra ser difícil de compreender, como ainda não dominava os nomes comerciais dos medicamentos, tinha de pedir sempre ajuda na interpretação da receita. À medida que fui memorizando os nomes comerciais foi-se tornando menos complicado, mas sempre que surgiam receitas manuais pedia sempre uma segunda leitura por outro colega, de forma a confirmar e assim evitar erros.

## **2.3. Oportunidades**

### **2.3.1. Formações**

Dada a enorme variedade de produtos e a constante inovação, com surgimento de novos medicamentos e produtos de saúde, torna-se fulcral a necessidade de formações que permitam aos profissionais de farmácia atualizar os seus conhecimentos de maneira a corresponder da melhor forma às expectativas dos utentes. Tive a oportunidade de participar em várias formações entre elas uma sobre veterinária no âmbito do projeto espaço animal e

várias outras de diversas marcas como: Sanofi, Mylan, Bayer, Jaba, GSK, Isdin, Advancis, PharmaNord, entre outras.

### **2.3.2. Medição de parâmetros de saúde**

A FG é uma farmácia que aposta muito na inovação, e para a medição de parâmetros analíticos dispõe do aparelho Clini5, que permite a análise de uma grande variedade de parâmetros bioquímicos entre eles a glicémia, colesterol total, HDL e LDL, triglicéridos, hemoglobina, eritrócitos, hematócrito, ácido úrico, HbA1c, ALT, AST, entre outros. Deste modo tive a oportunidade de assistir à medição de vários destes parâmetros e no final do estágio tive a oportunidade de fazer a medição da glicémia efetuando todo o protocolo desde a recolha de sangue num tubo capilar até à obtenção e interpretação do resultado.

Também auxiliava os utentes na medição do peso, altura, índice de massa corporal e tensão arterial, alertando para a necessidade de hábitos de vida saudáveis.

### **2.3.3. Preparação de manipulados**

Um medicamento manipulado é qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico (INFARMED, Portaria n.º 594/2004). Vários medicamentos manipulados foram preparados ao longo do tempo em que estive na FG. Inicialmente visualizei a preparação de alguns manipulados, bem como o modo de preenchimento da ficha de produção e o cálculo do preço. Depois, ao longo do estágio, pude proceder à preparação de alguns manipulados como uma pomada de enxofre para tratar a escabiose e uma pomada para alívio de uma crise hemorroidária contendo dinitrato de isossorbida e Faktu®.

### **2.3.4. Novo módulo de atendimento do SIFARMA**

A FG integra o projeto piloto de implementação do novo módulo de atendimento do programa informático SIFARMA. Esta nova ferramenta vem no sentido de aperfeiçoar e melhorar o programa informático antigo (SIFARMA 2000®), sendo um programa também mais intuitivo. Assim, tive a oportunidade de ter uma formação com um especialista no programa e tive a oportunidade de poder fazer alguns atendimentos usando esta nova funcionalidade, que no futuro será implementada na grande maioria das farmácias do país. Deste modo, pude contactar tanto com o programa antigo como com o novo módulo de atendimento.

## **2.4. Ameaças**

### **2.4.1. Medicamentos esgotados**

A situação de medicamentos esgotados foi uma realidade bastante perceptível durante o estágio. Esta situação é bastante inconveniente para os utentes, que muitas vezes telefonavam para a farmácia a questionar sobre esses medicamentos ou se deslocavam à farmácia, originando muita insatisfação aos utentes que se tornavam várias vezes desagradáveis com os profissionais de farmácia. Por outro lado, esta situação leva a que os profissionais tenham de despende tempo para verificar a situação junto dos fornecedores, fazer a gestão dos medicamentos rateados e até mesmo tentar encontrar alternativas que muitas vezes não eram do agrado dos utentes. Isto gera alguma desconfiança por parte dos utentes menos informados e incompreensivos quanto ao trabalho e profissionalismo dos profissionais de farmácia que se esforçam e fazem o seu melhor para solucionar o problema.

### **2.4.2. Espaços de venda de MNSM**

Atualmente com a liberalização da comercialização de MNSRM fora das farmácias (Ministério Da Saúde, Decreto-Lei n.º134/2005), a comercialização nas farmácias deste tipo de medicamentos e outros produtos de saúde tem sido afetada, dada a capacidade das parafarmácias de adquirir esses produtos em grande quantidade, conseguindo assim colocar preços mais reduzidos. Para agravar esta situação, dadas as características socioeconómicas da população portuguesa e em especial dos pensionistas, existe uma grande preocupação em economizar e realizar comparações de preços. A forma das farmácias contornarem este problema foi mostrando o valor do aconselhamento diferenciado pelo farmacêutico. No entanto, por vezes as pessoas recorrem à farmácia para pedir o aconselhamento que é gratuito e depois acabam por adquirir esses produtos nas parafarmácias.



### 3. Casos Práticos

**Caso 1** - Uma senhora dirige-se à farmácia bastante preocupada com o seu filho de 2 anos. Conta que o seu filho tem uma picada de inseto junto ao olho e mostra o olho da criança que se encontrava vermelho e ligeiramente inchado. Queixa-se também que o filho tem muita comichão no olho.

Aconselhamento: Dado que se trata de uma criança de 2 anos aconselhei Fenistil® 1 mg/ml gotas orais, cujo princípio ativo é o dimetindeno que é um anti-histamínico, de forma a reduzir a reação alérgica à picada do inseto, e assim, reduzir o prurido fazendo com que a criança não tenha vontade de coçar o olho de forma a reduzir o inchaço. Dada a idade da criança, a posologia indicada foi de 15 gotas, três vezes por dia, sendo que se deve administrar as gotas numa colher de chá sem diluir (INFARMED, Fenistil® gotas orais RCM). Aconselhei ainda o produto *Avène Soins Apaisant Contour Des Yeux* que além de hidratar a pele, tem propriedades calmantes devido à água termal que reduz as irritações, a sensação de repuxar e a vermelhidão na área do contorno dos olhos (Avène, 2019).

**Caso 2** - Uma senhora com cerca de 40 anos dirigiu-se à farmácia e queixou-se que já há alguns dias que sente prurido intenso e algum ardor vaginal. Também referiu um ligeiro corrimento vaginal espesso e sem odor e com uma tonalidade ligeiramente esbranquiçada.

Aconselhamento: Através da análise dos sintomas concluí que muito possivelmente se tratava de uma candidíase vaginal, ou seja, uma infeção fúngica por *Candida albicans*. Assim aconselhei Gino-canesten® creme, que contém clotrimazol que é um antifúngico de largo espetro. Expliquei que quanto à posologia e modo de administração, o creme vaginal deve ser aplicado introduzindo o aplicador com o creme o mais profundamente na vagina, de preferência à noite, antes de deitar, uma vez por dia, durante 6 dias seguidos. Recomendei também evitar relações sexuais enquanto estiver a fazer o tratamento e alertei para a possibilidade do parceiro também poder estar infetado (INFARMED, Gino-canesten® RCM). Além disso recomendei também o Lactacyd® gel íntimo, para a higiene diária da senhora, que contribui para o equilíbrio do pH natural e ajuda a reduzir a sensação de irritação (Lactacyd, 2019).

## Conclusão

O estágio em farmácia comunitária é de extrema importância para a formação dos futuros farmacêuticos, dado que permite ao estudante aprender em contexto de trabalho real. A realização deste estágio permitiu consolidar os conhecimentos adquiridos ao longo do curso, conhecer e integrar o funcionamento da farmácia bem como contactar com os utentes.

Uma vez que a farmácia, na maioria das vezes, é o primeiro local a que as pessoas recorrem quando têm algum problema de saúde, é fundamental a relação do farmacêutico com os seus utentes de forma a conhecer a sua situação socioeconómica e familiar. Neste estágio pude experienciar esta proximidade com as pessoas e a sensibilidade dos profissionais de farmácia para com a vida quotidiana dos utentes, pelo que havia um esforço enorme para que os doentes mais desfavorecidos pudessem adquirir os medicamentos, quer tentando arranjar os medicamentos mais baratos existentes no mercado, quer dando a possibilidade de ficar a dever ou até mesmo fazendo a seleção dos medicamentos vitais em detrimento de outros considerados não tão importantes.

Relativamente aos MNSRM e outros produtos de saúde, o que marca a diferença da farmácia em relação a outros locais de venda destes produtos é o aconselhamento e isso foi notório neste estágio. As pessoas confiam no farmacêutico e muitas vezes preferem pagar um pouco mais e ter o aconselhamento certo e personalizado para a sua situação.

O farmacêutico tem, sem dúvida, um papel muito importante na sociedade, não só como especialista do medicamento mas também como agente de saúde pública que promove a saúde e hábitos de vida saudáveis.

Por fim queria agradecer a toda a equipa da farmácia Guardiano pela simpatia, partilha de conhecimentos, disponibilidade para esclarecer as minhas dúvidas, por me fazerem sentir membro da equipa e pela confiança que depositaram em mim.

## Referências Bibliográficas

ADMINISTRAÇÃO CENTRAL DO SISTEMA DE SAÚDE - **Normas relativas à prescrição de medicamentos e produtos de saúde**. 3 (2014) 1–23.

AVÈNE - **Avène Soins Apaisants Contour Des Yeux** (acedido dia 13 de junho de 2019). Disponível na internet: <https://www.eau-thermale-avene.pt/rosto/cuidado-diario/cuidados-essenciais-de-rosto/emulsao-suavizante-olhos>

DYSON, ROBERT - **Strategic development and SWOT analysis at the University of Warwick**. European Journal of Operational Research. 6.Vol. 152:3 (2004) 631-640

INFARMED - **Boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados**. Portaria n.º 594/2004, de 2 de Junho.

INFARMED - **Fenistil® 1 mg/ml gotas orais: Resumo das Características do Medicamento**. (Acedido dia 13 de junho de 2019). [http://app7.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=6008&tipo\\_doc=rcm](http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=6008&tipo_doc=rcm)

INFARMED - **Gino-canesten®: Resumo das Características do Medicamento**. (Acedido dia 13 de junho de 2019). [http://app7.infarmed.pt/infomed/download\\_ficheiro.php?med\\_id=3916&tipo\\_doc=rcm](http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=3916&tipo_doc=rcm)

LACTACYD - **Lactacyd® gel íntimo**. (Acedido dia 13 de junho de 2019). <https://www.lactacyd.pt/lactacyd/portfolio/lactacyd-intimo/>

MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Decreto-Lei n.º 134/2005 de 16 de Agosto**. Diário da República, Série I-A. N.º 156/2005 (2005), p. 4763-4765.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Portaria n.º 224/2015**. Diário da República n.º 144/2015, Série I de (2015), p. 5037-5043.

NICHELS, WILLIAM; WOOD, MARIAN. - **Marketing: Relationships, quality, value**. (1997) New York.

## **Parte II**

# **Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar**

**(Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra)**

**Estágio orientado pela Doutora Marília João Rocha**

## **Lista de Abreviaturas**

**CHUC** - Centro Hospitalar da Universidade de Coimbra

**FFUC** - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

**FH** - Farmácia Hospitalar

**HUC** - Hospitais da Universidade de Coimbra

**MICF** - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**UMIV** - Unidade de Misturas Intravenosas

**UPC** - Unidade de Preparação de Citotóxicos

## Introdução

No âmbito da unidade Estágio Curricular que se encontra inserida no plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), realizei entre 1 de janeiro e 28 de fevereiro de 2019, um estágio no Centro Hospitalar da Universidade de Coimbra (CHUC), sob a orientação da Doutora Marília João Rocha, o qual culminou na elaboração desta análise SWOT.

Sendo os CHUC um Centro Hospitalar Universitário, o ensino é uma valência que coloca ao dispor dos estudantes da Universidade de Coimbra. Deste modo, os Serviços Farmacêuticos proporcionam estágios para aprendizagem em contexto hospitalar aos alunos do quinto ano de MICF, constituindo uma mais-valia, uma vez que permite ao estudante aplicar e sedimentar os conhecimentos adquiridos ao longo do curso e explorar a prática farmacêutica quer por via observacional quer através da realização de tarefas práticas. O estágio marca assim a transição de um ensino preparatório para um ensino em contexto de trabalho real, preparando os estagiários para a entrada no mercado de trabalho.

No início do estágio, a Doutora Marília Rocha procedeu ao acolhimento dos estagiários e explicação do funcionamento e estrutura do estágio, seguindo-se uma visita às instalações e setores dos Serviços Farmacêuticos pela Doutora Adelaide. Finda a visita fez-se a distribuição dos estagiários pelos vários setores. No anexo I encontra-se o cronograma do estágio.

Ao realizar o estágio tive oportunidade de contactar com o Setor da Distribuição, Farmacotecnia, Ensaios Clínicos e Cuidados Farmacêuticos, sendo que neste relatório consta uma análise SWOT (*Strengths, Weakness, Opportunities, Threats*) que faz uma avaliação dos dois meses de estágio que experienciei nos CHUC.

## **I. A Farmácia Hospitalar e os Serviços Farmacêuticos**

A Farmácia Hospitalar define-se como o conjunto de funções e tarefas realizadas em Hospitais e outros serviços a eles relacionados, onde se inclui também o ensino e investigação científica (Decreto-Lei n.º 44 204, 1962). Estas atividades são realizadas pelos Serviços Farmacêuticos que têm autonomia técnica e científica, estando sob alçada dos Órgãos de Administração dos Hospitais e cuja direção é da responsabilidade de um farmacêutico hospitalar (Conselho Executivo Da Farmácia Hospitalar,2005; Decreto-Lei n.º 44 204, 1962).

Os Serviços Farmacêuticos Hospitalares têm a responsabilidade de garantir a terapêutica medicamentosa aos doentes, a qualidade, eficácia e segurança dos medicamentos e fomentar a investigação científica e o ensino (Conselho Executivo Da Farmácia Hospitalar,2005). Assim, o farmacêutico como especialista do medicamento no sistema de saúde tem de assumir essas responsabilidades e ensinar e esclarecer os outros profissionais de saúde nos domínios relacionados ao medicamento (Simpson, 2017).

Os Serviços Farmacêuticos dos Hospitais da Universidade de Coimbra (HUC) encontram-se divididos em vários setores: Distribuição, Gestão e aprovisionamento, Informação de medicamentos e dispositivos médicos, Ensaio Clínicos, Farmacotecnia, Sistemas de Informação e Auditoria Interna.

## **2. Análise SWOT**

A análise SWOT tem como objetivo identificar os pontos fortes (*Strengths*) e fracos (*Weakness*) de uma organização bem como as oportunidades (*Opportunities*) e ameaças (*Strengths*) no ambiente. Os pontos fortes e fracos são identificados por uma avaliação interna da organização enquanto as oportunidades e ameaças são através de uma avaliação externa. Após essa recolha e sistematização, são desenvolvidas estratégias com a finalidade de aproveitar os pontos fortes, eliminar as fraquezas, explorar as oportunidades e combater as ameaças (Dyson, 2004).

**Tabela 1:** Análise SWOT – Principais forças, fraquezas, oportunidades e ameaças.

<b>Forças</b>	<b>Fraquezas</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Ambulatório</li><li>• Caderno do estagiário</li><li>• Setor da Distribuição</li><li>• Sector da Farmacotecnia</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Contacto com o doente</li><li>• Duração do Estágio</li><li>• Plano curricular de MICF</li></ul>
<b>Oportunidades</b>	<b>Ameaças</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Formações</li><li>• Apresentações de trabalhos e do caso clínico</li><li>• Comunicação entre profissionais de saúde</li><li>• Farmácia Clínica</li><li>• Radiofarmácia</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Reduzida oferta de emprego em FH</li><li>• Centralização dos Serviços Farmacêuticos dos CHUC nos HUC</li></ul>

## **2.1. Forças**

### **2.1.1. Ambulatório**

Um ponto forte do meu estágio foi os serviços de ambulatório. Ao estar no ambulatório dos HUC contactei de perto com diversos medicamentos hospitalares, pude ler legislação específica relativamente à cedência deste tipo de medicamentos, participei ativamente no processo de cedência dos medicamentos aos doentes e nas últimas vezes que estive no ambulatório pude fazer atendimento das cedências programadas e atendimento completo dos doentes sob supervisão da Dra. Ana Cristina Lebre que era a minha orientadora no Setor da Distribuição.

Ao estar no ambulatório do Hospital de Dia de oncologia (Edifício S. Jerónimo), permitiu-me observar outra forma de fazer cedência de medicamentos, muito mais aprofundada, em que se explica detalhadamente a posologia, efeitos adversos, interações medicamentosas e com alimentos e são dados conselhos aos doentes. Contactei também com medicamentos e protocolos de quimioterapia.

### **2.1.2. Caderno do estagiário**

O caderno do estagiário é uma ferramenta importante visto que permite orientar os estagiários pois indica os objetivos, as atividades a desenvolver e os conhecimentos a adquirir em cada setor. Tinha também um conjunto de tabelas que preenchi com os fármacos com os quais contactei nos diversos setores, que se encontram no Anexo 2.



Este caderno foi sem dúvida importante no estágio, pois ao efetuar o seu preenchimento, ia tendo a noção daquilo que já tinha realizado e daquilo que ainda me faltava contactar.

### **2.1.3. Setor da distribuição**

Durante um mês estive no setor da distribuição, onde observei e realizei várias tarefas. Destaco a aprendizagem de como fazer validação de prescrições e a compreensão do circuito do medicamento.

Dado que este setor tem um maior contacto com os serviços clínicos, visitei algumas vezes o serviço de Ortopedia A, onde participei no processo de reorganização da enfermaria, com colocação de etiquetas para identificar as gavetas e armários de arrumação dos medicamentos e outros materiais, segundo a nomenclatura LASA (*Look Alike Sound Alike*) a fim de prevenir futuros erros ao nível da administração de fármacos.

### **2.1.4. Setor da farmacotecnia**

Na temporada que passei pelo setor da farmacotecnia passei por várias unidades, entre as quais estive uma semana na radiofarmácia, uma semana e meia na Unidade de Misturas Intravenosas (UMIV) e uma semana e meia na Unidade de preparação de Citotóxicos (UPC).

Enquanto estive na UMIV pude participar ativamente nas diferentes tarefas tais como: fazer o registo diário dos colírios e impressão de rótulos, dar entrada dos manipulados nos armazéns e auxiliar no embalamento dos medicamentos. Por outro lado também observei a validação de prescrições, a libertação de lote e a preparação de manipulados, nomeadamente, nutrições parentéricas (câmara de fluxo laminar horizontal), soro autólogo e vários anticorpos monoclonais (câmara de fluxo laminar vertical). Estive também dois dias na unidade de preparação de medicamentos não estéreis onde observei a preparação de vários manipulados, entre eles a pomada de ácido asiático e rifampicina; a solução oral de nistatina, lidocaína e bicarbonato de sódio; a suspensão oral de acitretina e o xarope comum. Pude também assistir ao procedimento médico de quimioembolização hepática recorrendo a microesferas carregadas com doxorubicina que foram preparadas anteriormente na UMIV.

No tempo que passei na UPC tive a oportunidade de observar a validação de prescrições, auxiliar nas atividades de verificação, e pude realizar a libertação de lotes e observar a preparação de vários fármacos citotóxicos e de infusores.

Ao nível da radiofarmácia abordarei mais detalhadamente nas oportunidades.

Considero que ter estado nestas unidades me permitiu conhecer em maior profundidade os medicamentos hospitalares, observar técnicas de manipulação novas para mim, além de poder participar nas atividades desempenhadas pelos farmacêuticos hospitalares.

## **2.2. Fraquezas**

### **2.2.1. Contacto com o doente**

No decorrer do estágio fui-me apercebendo que o farmacêutico hospitalar tem um contacto limitado com o doente. A nível de comunicação direta, apenas no ambulatório existe contacto com os doentes e sendo que este contacto é breve e não permite conhecer o doente e a sua condição em profundidade. A nível indireto, também o farmacêutico tem um acesso limitado às informações do doente e à sua história clínica, tendo acesso praticamente só à prescrição, ao histórico de análises realizadas e a algumas informações que são de preenchimento opcional pelo médico.

Desta forma torna-se difícil intervir junto dos doentes, pelo que deveria haver acesso a mais informação a nível informático para o farmacêutico e visitas regulares aos serviços com entrevistas aos doentes, de forma a poder-se fazer uma validação da prescrição ainda mais assertiva e participar na reconciliação à terapêutica.

### **2.2.2. Duração do estágio**

Com o término do estágio constatei que a duração do estágio em farmácia hospitalar, que é de 280 horas, se revelou limitado, pelo que não há possibilidade de passar em todos os setores dos Serviços Farmacêuticos, de modo que tivemos algumas formações para conhecer um pouco do que é feito nalguns setores em que não houve oportunidade de passar. Por outro lado, o tempo passado nas diferentes unidades da farmacotecnia também foi um pouco curto, pois quando já estava a entrar no ritmo de trabalho e começava a aprofundar as tarefas, tinha que mudar para outra unidade.

Assim, se a duração do estágio fosse mais longa, permitia sedimentar melhor os conhecimentos e aprofundar as tarefas da rotina dos farmacêuticos hospitalares.

### **2.2.3. Plano curricular de MICF**

Apesar do plano curricular do MICF ser bastante bem estruturado e atual, senti que me faltavam alguns conhecimentos principalmente relacionados ao setor da Radiofarmácia, em que praticamente tudo era novo para mim. Também relativamente aos medicamentos

hospitalares e às patologias dos doentes senti que os meus conhecimentos eram um pouco superficiais.

## **2.3. Oportunidades**

### **2.3.1. Formações**

Durante a realização do estágio foi-me dada a possibilidade de participar em diferentes formações que contribuíram para aprofundar conhecimentos e conhecer melhor o trabalho realizado pelos farmacêuticos hospitalares nos diferentes setores. Tive a oportunidade de participar em várias formações: sobre o setor dos ensaios clínicos, o programa informático SGICM, o setor da farmacotecnia, o setor de gestão e aprovisionamento, farmacocinética, formação prática de preparação de manipulados e sobre reconciliação da terapêutica.

### **2.3.2. Apresentações de trabalhos e do caso clínico**

Ao longo do estágio foi-me proposto realizar vários trabalhos de pesquisa sobre diversos temas como anticorpos monoclonais e recipientes de vidro para uso farmacêutico, preencher diversas tabelas sobre medicamentos hospitalares referentes aos diferentes setores por onde passei (Anexo 2), elaborar um caso clínico (Anexo 3) e realizar uma apresentação do setor da distribuição. Ao elaborar o caso clínico referente a uma doente do serviço de Ortopedia A pude explorar o sistema informático SGICM, recordar e aprofundar conhecimentos sobre diversos medicamentos e patologias e aplicar os conhecimentos aprendidos na formação de reconciliação da terapêutica.

### **2.3.3. Comunicação entre profissionais de saúde**

Durante a realização deste estágio tive oportunidade de contactar com outros profissionais de saúde nomeadamente médicos, enfermeiros e técnicos superiores. Deste contacto pude aprender e alargar os meus horizontes noutras áreas e sentir-me integrado na equipa multidisciplinar do hospital.

A título de exemplo, do contacto com a Dra. Paula Soeiro (médica do serviço de medicina nuclear) tive a oportunidade de ver a administração de vários radiofármacos aos doentes, de me serem explicadas diversas patologias, de ver serem realizados os diferentes exames e de me ser explicada a análise de cintigrafias praticamente de todos os órgãos. Por outro lado, eu explicava a farmacocinética e questões relacionadas com os fármacos que estudava nos tempos em que não havia fármacos para radiomarcador, resultando um intercâmbio de conhecimentos. Também durante a formação de reconciliação da terapêutica fui integrado

num grupo com uma enfermeira, uma médica e uma farmacêutica onde foi interessante ver os diferentes pontos de vista dos diferentes profissionais de saúde sobre a mesma temática.

#### **2.3.4. Farmácia clínica**

Uma vez que a área da farmácia clínica está em grande expansão e a ganhar cada vez mais notoriedade (Almarsdóttir, Granas And Blondal, 2019), foi-me dada a oportunidade pela Doutora Marília Rocha de aprender a fazer individualização da terapêutica, nomeadamente no que diz respeito aos antibióticos, recorrendo aos seus parâmetros farmacocinéticos. Por outro lado, a formação de reconciliação da terapêutica também me permitiu aprender como fazer a admissão e alta de um doente, tendo depois aplicado esses conhecimentos na realização do caso clínico.

#### **2.3.5. Radiofarmácia**

A radiofarmácia é um setor da farmacotecnia situado no serviço de medicina nuclear, que irá no futuro ganhar uma importância crescente devido aos avanços tecnológicos que se tem assistidos na área da imagem médica (Ilem-Ozdemir *et al.*, 2019). Sendo o farmacêutico o especialista do medicamento, é o profissional mais apto a fazer marcação de medicamentos com radioatividade e manipulação de radiofármacos (Decristoforo And Schwarz, 2011). Assim tive a oportunidade de observar a radiomarcação de fármacos *in vitro* e de leucócitos *in vivo*, de efetuar a preparação dos geradores para eluição do tecnécio e de executar uma parte do controlo de qualidade onde se avaliou a pureza radioquímica e radionuclídica. Outra vantagem de ter estado neste setor, foi que ao observar várias cintigrafias permitiu-me visualizar o percurso do medicamento no organismo e a forma como é distribuído e eliminado. Assim, observei na prática aquilo que aprendi teoricamente na faculdade sobre a farmacocinética dos fármacos.

### **2.4. Ameaças**

#### **2.4.1. Reduzida oferta de emprego em FH**

No contexto atual do país, o orçamento de estado para a saúde é reduzido, o que leva a que as contratações de profissionais de saúde, onde se incluem os farmacêuticos hospitalares, sejam limitadas pelo que os trabalhadores dos Serviços Farmacêuticos estão sobrecarregados com trabalho, sendo apenas realizadas as tarefas base inerentes à profissão.

Na minha opinião este problema afeta o dinamismo dos diferentes setores, caindo-se na rotina, o que leva os profissionais a não estarem motivados para se envolverem em novas tarefas e novos projetos.

#### **2.4.2. Centralização dos Serviços Farmacêuticos dos CHUC nos HUC**

A centralização dos Serviços Farmacêuticos nos HUC, nomeadamente ao nível da farmacotecnia, pode vir a tornar mais complicada a aprendizagem dos estagiários visto que serão fechadas unidades noutros hospitais, o que leva a que mais estagiários tenham de estar na mesma unidade e a que haja menos tempo por parte dos tutores para acompanhar os estagiários devido ao maior volume de trabalho.

## Conclusão

O estágio que realizei nos Serviços Farmacêuticos foi sem dúvida importante na minha formação quer enquanto pessoa quer enquanto futuro profissional de saúde.

Durante o estágio tive oportunidade de compreender o funcionamento do Hospital enquanto instituição e o quão importante é a gestão integrada do plano terapêutico. Por outro lado, pude explorar a vertente hospitalar da profissão farmacêutica, pelo que ao passar pelos diferentes setores dos Serviços Farmacêuticos, encontrei uma realidade sobre a qual pouco sabia. O papel do farmacêutico é de extrema importância, pois cabe a ele fazer diversas tarefas fulcrais para o bom funcionamento do hospital, para a segurança dos doentes e para o uso racional dos medicamentos. Nessas tarefas estão incluídas a validação das prescrições médicas, a cedência de medicamentos, a garantia da correta preparação de manipulados e várias outras atividades relevantes associadas à gestão e aprovisionamento, ensaios clínicos, cuidados farmacêuticos e informação de medicamentos e dispositivos médicos.

Com este estágio tive a oportunidade de me enriquecer sobre os medicamentos hospitalares, patologias, fundamentos e técnicas de manipulação de medicamentos e procedimentos diários realizados nos vários setores por onde passei. Assim, permitiu-me consolidar aprendizagens e adquirir novos conhecimentos e competências que tornam mais completa a minha formação. Também as diversas ações de formação que foram preparadas com grande empenho exclusivamente para os estagiários, permitiram alicerçar conhecimentos sobre os vários setores, incluindo aqueles onde não houve possibilidade de passar.

É um sentimento de gratidão que deixo a todos os Farmacêuticos que me acompanharam nesta jornada, pela sua simpatia e por me fazerem sentir parte da equipa, pois estiveram sempre disponíveis para me esclarecer dúvidas e ensinar a realizar as diferentes tarefas, tendo eu a oportunidade de participar ativamente em várias atividades. Um bem haja a todos os profissionais de saúde que de alguma forma se cruzaram no meu percurso.

## **Referências Bibliográficas**

ALMARSDÓTTIR, ANNA; GRANAS, ANNE; BLONDAL, ANNA. - **Clinical and Social Perspectives on Pharmacy Services**. Clinical Pharmacy Education, Practice and Research. (2019) 31-40.

CONSELHO EXECUTIVO DA FARMÁCIA HOSPITALAR - **Manual da Farmácia Hospitalar** ISBN: 972-8425-63-5 (2005).

DECRETO-LEI N.º 44 204, DE 2 DE FEVEREIRO DE 1962 - **Regulamento geral da Farmácia hospitalar** (1962).

DECRISTOFORO, CLEMENS; SCHWARZ, SALLY. - **Radiopharmacy: regulations and legislations in relation to human applications**. Drug Discovery Today: Technologies. 8:2-4 (2011) 71-77.

DYSON, ROBERT. - **Strategic development and SWOT analysis at the University of Warwick**. European Journal of Operational Research. 152:3 (2004) 631-640.

ILEM-OZDEMIR, DERYA. [et al.] - **Nuclear medicine and radiopharmaceuticals for molecular diagnosis**. Biomedical Applications of Nanoparticles. 17 (2019) 457-490.

SIMPSON, SCOT. - **The Roles We Have as Hospital Pharmacists**. The Canadian Journal of Hospital Pharmacy. 70:1 (2017) 3-4.

## Anexos

### Anexo I – Cronograma de estágio

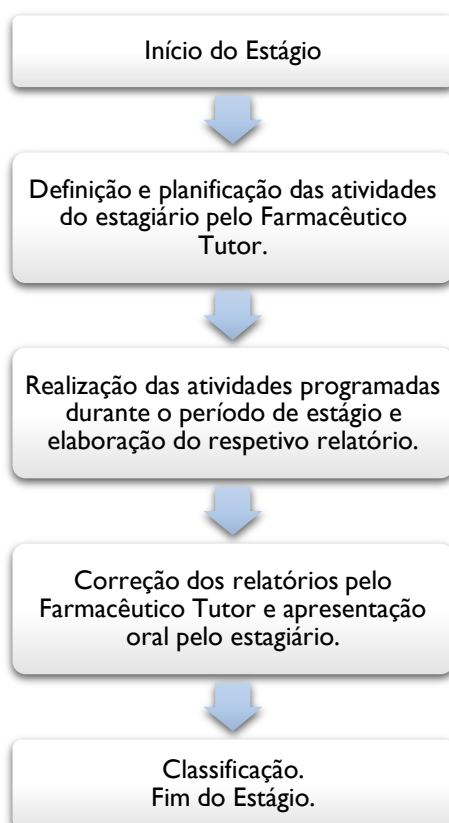
Setor	Segunda	Terça	Quarta	Quinta	Sexta	Mês	
Distribuição	7	8	9	10	11	janeiro	Ensaio Clínicos
	14	15	16	17	18		Radiofarmácia
	21	22	23	24	25		UMIV
	28	29	30	* 31			UPC
					1		Cuidados Farmacêuticos
Farmacotecnia	4	5	6	7	8	fevereiro	Formação de Reconciliação da terapêutica
	11	12	13	14	15		
	18	19	20	21	22		
	* 25	26	* 27	28			

**Formações:**

- ✚ Ensaio Clínicos: 15 de janeiro
- ✚ Farmacotecnia: 16 de janeiro
- ✚ Programa Informático SGICM: 17 de janeiro
- ✚ Gestão e aprovisionamento: 30 de janeiro
- ✚ Farmacocinética: 6 de fevereiro
- ✚ Prática de manipulação: 27 de fevereiro

**Avaliações:**

- ★ Dia 31 de janeiro – Apresentação do setor da Distribuição e Ensaio Clínicos e das tabelas do caderno do estagiário relativas ao setor da distribuição;
- ★ Dia 25 de fevereiro – Apresentação do Caso Clínico e do e do trabalho sobre anticorpos monoclonais;
- ★ Dia 27 de fevereiro – Apresentação da Análise SWOT e das tabelas do caderno do estagiário relativas ao setor da farmacotecnia.





## Anexo 2 – Caderno do estagiário

### Setor da Distribuição

#### Avaliação de Distribuição de medicamentos

<b>Medicamento</b>	Maviret: 100 mg de glecaprevir e 40 mg de pibrentasvir comprimidos revestidos por película.																			
<b>Grupo farmacoterapêutico</b>	Antiviral de ação direta.																			
<b>Apresentação / Estabilidade / Cuidados a ter</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Comprimido revestido por película cor-de-rosa, biconvexo, com dimensões de 18,8 mm x 10,0 mm e com a gravação 'NXT' numa das faces.</li> <li>• Não necessita de precauções especiais de conservação.</li> </ul>																			
<b>Indicações aprovadas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tratamento da infeção pelo vírus da hepatite C (VHC) crónica em adultos.</li> </ul>																			
<b>Pauta posológica</b>	<p>A dose recomendada de Maviret é 300 mg/120 mg (três comprimidos de 100 mg/40 mg), tomados por via oral, uma vez por dia com alimentos.</p> <p><b>Tabela 1: Duração recomendada do tratamento com Maviret para doentes sem exposição anterior ao tratamento para infeção por VHC</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Genótipo</th> <th colspan="2">Duração recomendada do tratamento</th> </tr> <tr> <th>Sem cirrose</th> <th>Cirrose</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Todos genótipos VHC</td> <td>8 semanas</td> <td>12 semanas</td> </tr> </tbody> </table> <p><b>Tabela 2: Duração recomendada do tratamento com Maviret para doentes que falharam terapia prévia com peginterferão (peg-IFN) + ribavirina +/- sofosbuvir, ou sofosbuvir + ribavirina</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Genótipo</th> <th colspan="2">Duração recomendada de tratamento</th> </tr> <tr> <th>Sem cirrose</th> <th>Cirrose</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>GT 1, 2, 4-6</td> <td>8 semanas</td> <td>12 semanas</td> </tr> <tr> <td>GT 3</td> <td>16 semanas</td> <td>16 semanas</td> </tr> </tbody> </table>	Genótipo	Duração recomendada do tratamento		Sem cirrose	Cirrose	Todos genótipos VHC	8 semanas	12 semanas	Genótipo	Duração recomendada de tratamento		Sem cirrose	Cirrose	GT 1, 2, 4-6	8 semanas	12 semanas	GT 3	16 semanas	16 semanas
Genótipo	Duração recomendada do tratamento																			
	Sem cirrose	Cirrose																		
Todos genótipos VHC	8 semanas	12 semanas																		
Genótipo	Duração recomendada de tratamento																			
	Sem cirrose	Cirrose																		
GT 1, 2, 4-6	8 semanas	12 semanas																		
GT 3	16 semanas	16 semanas																		
<b>Condições especiais de monitorização do seu uso</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Monitorizado por um médico com experiência no tratamento de doentes com infeção pelo VHC.</li> <li>• Doentes tratados com antagonistas da vitamina K, dado que a função hepática se pode alterar durante o tratamento com Maviret, é recomendada uma monitorização atenta dos valores de INR.</li> </ul>																			
<b>Reações adversas mais frequentes</b>	Diarreia, náuseas, cefaleias, fadiga e astenia.																			
<b>Interações mais frequentes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glecaprevir e pibrentasvir são inibidores da glicoproteína-P (gp-P), da proteína de resistência do cancro da mama (BCRP) e polipeptídeo transportador do anião orgânico (OATP) IB1/3. A coadministração com Maviret pode aumentar as concentrações plasmáticas de medicamentos que são substratos da gp-P (por exemplo, dabigatranato etexilato, digoxina), BCRP (por exemplo, rosuvastatina), ou OATP1B1/3 (por exemplo, atorvastatina, lovastatina, pravastatina, rosuvastatina, sinvastatina).</li> <li>• Indutores de P-gp e CYP3A (ex: rifampicina, carbamazepina, hipericão (<i>Hypericum perforatum</i>), fenobarbital, fenitoína e primidona) podem reduzir o efeito terapêutico do Maviret.</li> </ul>																			
<b>Informação pertinente a dar ao doente de ambulatório ou ao prof. de saúde</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dose recomendada: 3 comprimidos tomados por via oral, uma vez por dia com alimentos preferencialmente sempre à mesma hora. Os comprimidos devem ser engolidos inteiros e não mastigados, esmagados ou divididos.</li> <li>• Se houver omissão de uma dose, a dose prescrita pode ser tomada no período de 18 horas após a hora em que era suposto ter sido tomada. Se tiverem decorrido mais de 18 horas depois da hora da toma habitual, a dose esquecida não deve ser tomada e o doente deverá tomar a dose seguinte à hora habitual de acordo com o esquema posológico habitual.</li> </ul>																			

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se ocorrerem vômitos nas 3 horas após a toma, deve ser tomada uma dose adicional. Se ocorrerem vômitos mais de 3 horas após a toma, não é necessária uma dose adicional.</li> <li>• O tratamento não deve ser interrompido sem ordem médica, mesmo que surjam efeitos adversos.</li> <li>• Poderão surgir efeitos secundários como fadiga, dores de cabeça, fraqueza, diarreia e náuseas.</li> <li>• Não tomar outros medicamentos sem o conhecimento do médico ou farmacêutico.</li> <li>• Não é recomendada a utilização durante a gravidez e/ou amamentação.</li> </ul>
<b>Tipo de distribuição a que está sujeito</b>	Distribuição em Regime de ambulatório.

### Questões Práticas da Distribuição

<b>Grupo Farmacoterapêutico</b>	Inibidores da aromatase
<b>Quantos medicamentos fazem parte deste grupo no teu hospital? Cita alguns princípios ativos.</b>	3 (anastrozol, exemestano, letrozol)
<b>Qual a principal indicação para que é usado no teu hospital?</b>	Cancro da mama pós-menopausa, refratário a anti-estrogénios e cancro da próstata.
<b>Alguns dos medicamentos do grupo estão sujeitos a medidas de maior controlo ou restrição? Quais? E o que propõe essa medida?</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Avaliações formais da densidade mineral óssea por determinação da densitometria óssea, por exemplo efetuando um exame por DEXA (absorciometria radiológica de dupla energia) no início do tratamento e, subsequentemente, em intervalos regulares;</li> <li>•A menopausa deve ser definida por doseamento bioquímico em todas as doentes nas quais existem dúvidas sobre o seu estado hormonal.</li> </ul>
<b>Quais os medicamentos mais usados do grupo?</b>	Anastrozol
<b>Para esse medicamento mais usado, para quem é que maioritariamente é dispensado?</b>	Mulheres com cancro da mama pós-menopausa.
<b>Relativamente a esse medicamento sabes qual o principal efeito adverso? E interação major? Durante o estágio observas-te alguma?</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Afrontamentos e problemas gastro-intestinais.</li> <li>•Terapêuticas com estrogénios não devem ser co-administradas dado que contrariam a sua ação farmacológica.</li> <li>•Não foi observada nenhuma.</li> </ul>
<b>Qual a alternativa a esse medicamento?</b>	Tamoxifeno
<b>Outras observações</b>	---

## Setor dos Ensaios Clínicos

### Avaliação de EC de medicamentos

Nome do Ensaio Clínico:	<b>EFCI4875:The SCORED Trial</b>	<b>BAY I163877</b>
Área de estudo:	Cardiologia	Urologia
Fase de desenvolvimento:	Fase III	Fase III
Tarefas elaboradas:	Cedência de medicação	
Tarefas elaboradas na cedência do medicamento:	Prestação de informações ao doente; Contabilização da medicação (medicação parcialmente usada; embalagens vazias e medicação não usada); Cálculo da taxa de adesão; Rotulagem dos medicamentos a serem cedidos; Entrega da medicação.	
Assistiu a alguma visita de monitorização?	Não	Não

## Setor da Farmacotecnia

### Avaliação da Preparação de medicamentos Magistrais /Oficinais

Fármaco	Forma farmacêutica	Indicação	Componentes	Lote	Conservação e Validade	Técnica de controlo	Nº de Unidades preparadas e tempo gasto
Ácido asiático 10 mg/g + Rifampicina 10 mg/g	Pomada	Queimadura por radioterapia (região pélvica) em radiologia.	•Ácido asiático •Rifampicina	02/19	•Conservar no frigorífico; •Validade de 2 meses.	Caraterísticas organolépticas	6 unidades; 20 minutos.

### Avaliação da Preparação de medicamentos UMIV

Fármaco	Dose Frequência Via de administração	Indicação	Mecanismo de ação	Componentes	Lote	Técnica de controlo	Conservação e Validade
Soro Autólogo	•Usar um frasco diariamente e aplicar com intervalos superiores a 1h; •Uso ocular.	•Olho seco; •Úlcera da córnea; •Pós-transplante de córnea.	O soro autólogo é composto por fatores de crescimento epitelial e fibroblástico, fibronectina e vitaminas promovendo a cicatrização da córnea. A albumina tem efeito antiapoptótico. Os anticorpos e lisosimas têm ação antibacteriana.	•Soro autólogo; •Cloreto de sódio 9 mg/ml	35/19	Controlo microbiológico, pH e osmolaridade.	•Prazo de utilização: 6 meses a -20 °C ou 24h à temperatura ambiente; •Conservar ao abrigo da luz.

## Avaliação da Preparação de ciclos de Quimioterapia

Fármaco	Dose Frequência Via de administração	Indicação	Mecanismo de ação	Componentes	Lote	Técnica de controle	Conservação e Validade
Etoposido	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Dose: 193 mg;</li> <li>•Ciclo de 21 dias, com perfusão intravenosa durante 5 dias por um período não inferior a 30 minutos e não superior a 2h.</li> </ul>	Carcinoma testicular não seminomatoso resistente em combinação com outros agentes quimioterapêuticos.	O etoposido é um derivado semissintético da podofilotoxina. O seu efeito principal ocorre durante a fase G2 do ciclo celular. Provoca a lise de células que entram em mitose.	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Etoposido 20 mg/ml</li> <li>•Cloreto de sódio 0.9 mg/ml</li> </ul>	---	---	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Após diluição, o prazo de validade é de 96h se conservado a 20°C e de 48h se a 25°C; Não conservar no frigorífico e proteger da luz.</li> </ul>

## Avaliação da Preparação em Radiofarmácia

Fármaco	Dose Frequência Via de administração	Indicação	Componentes	Lote	Técnica de controle	Conservação e Validade
Osteocis®	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Injeção intravenosa única contendo 300-700 MBq</li> </ul>	Cintigrafia óssea	<ul style="list-style-type: none"> <li>•3 mg de oxidronato de sódio.</li> <li>•Após radiomarcção com solução de <sup>99m</sup>Tc- pertecnetato de sódio, o radiofármaco obtido é o <sup>99m</sup>Tc-oxidronato.</li> </ul>	-	Pureza radioquímica da suspensão injetável pronta a utilizar é controlada por cromatografia em camada fina. A % de <sup>99m</sup> Tc ligado deve ser >95% e a % de <sup>99m</sup> Tc hidrolisado ou livre deve ser <5%.	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Conservar no frigorífico (2°C – 8°C), na embalagem de origem para proteger da luz.</li> <li>•Validade de 12 meses. Após radiomarcção: 8 horas.</li> <li>Validade: (18/07/19)</li> </ul>

## Setor dos Cuidados Farmacêuticos

### Cinética dos Antibióticos Administrados em Multidose ou Unidose

Antibiótico	Mecanismo bactericida	Efeito pós-antibiótico	C <sub>sérica</sub> máxima ideal (pico)	C <sub>sérica</sub> mínima ideal (vale)
<b>Vancomicina</b>	Inibição da síntese da parede celular nas bactérias suscetíveis através da ligação com elevada afinidade para o terminal D-alanil-D-alanina de unidades precursoras da parede celular - <b>(AUC/MIC dependente - tempo e concentração-dependente)</b>	<b>Não tem</b>	<b>50-60</b>	<b>15-20</b>
<b>Amicacina</b>	Inibição da síntese proteica no ribossoma (subunidade 30S) - <b>(Concentração-dependente)</b>	<b>Sim</b>	<b>50-60</b>	<b>&lt;4</b>
<b>Gentamicina</b>	Inibição da síntese proteica no ribossoma (subunidade 30S) - <b>(Concentração-dependente)</b>	<b>Sim</b>	<b>16-20</b>	<b>&lt;0.1</b>

## **Anexo 3 – Caso Clínico**

**I. Nome:** M.M.

**Ano de nascimento:** 1965 (53 anos)

**2. Serviço de internamento:** Ortopedia A **Entrada:** 09/01/2019 **Saída:** 11/01/2019

**Diagnóstico:** Gonalgia à esquerda

**Antecedentes pessoais:**

Excesso Ponderal	Hipertensão arterial	Depressão
Diabetes <i>mellitus</i> tipo I	Insuficiência cardíaca	Dor crónica
Asma	Hipotiroidismo	

**Sinais Vitais:**

Afebril, Pulso normocárdico, Eupneia e Tensão arterial normal.

### **3. Exames Complementares**

**Análises Clínicas:**

09/01/2019 - Citometria e hemóstase (Sangue total)

Citometria	Data Pedido Resultado	Unidade	Valor Referência
<b>Hemograma</b>	2019-01-09 12:39		
Hemograma simples			
Leucócitos	5.4	x10 <sup>9</sup> /L	4.0 - 10.0
Eritrócitos	3.89	x10 <sup>12</sup> /L	3.80 - 4.80
Hemoglobina	<b>11.5</b>	g/dL	12.0 - 16.0
Hematocrito	<b>35.0</b>	%	36.0 - 46.0
Volume Corpuscular Médio	90.0	fL	83.0 - 101.0
Hemoglobina Corpuscular Média	29.6	pg	27.0 - 32.0
C.Hemoglobina Corpuscular Média	32.9	g/dL	32 - 35
Coefficiente Variação Eritrócitos	13.4		11.6 - 14
Plaquetas	251	x10 <sup>9</sup> /L	150 - 400
Volume Plaquetar Médio	10.1	fL	
Plaquetocrito	0.25	%	
Coefficiente Variação Plaquetas	17.0		
Validado por: Validação Informática ;			

Hemostase	Data Pedido Resultado	Unidade	Valor Referência
<b>Avaliação global</b>	2019-01-09 12:39		
Tempo de Protrombina / I.N.R.			
Tempo de Protrombina (TP)	10.8	seg.	9.4 - 12.5
Controlo	11.4	seg.	
Protrombinémia	109	%	70 - 120 .
Relação Normalizada (INR)	0.95		
Os valores de referência foram alterados a partir de 23/01/2019			
Tempo de Tromboplastina Parcial Activado			
Tempo de Tromboplastina Parcial Activado	25.2	seg.	25-34
Controlo	28.0	seg.	
Ratio	0.90		0.89 - 1.21

## 09/01/2019 - Bioquímica (Soro)

Bioquímica	Data Pedido	Unidade	Valor Referência
Bioquímica - Sangue	Resultado		
	2019-01-09 13:18		
Informação da Amostra			
Resultado.	Normal		
Glicose			
Resultado.	101	mg/dL	60 - 109
	5.6	mmol/L	3.3-6.0
Azoto Ureico			
Resultado.	23.0	mg/dL	7.9 - 20.9
	3.8	mmol/L	1.3-3.5
Creatinina			
Creatinina (IDMS)	0.98	mg/dL	0.55 - 1.02
	86.63	µmol/L	48.62-90.17
Cálcio			
Resultado.	9.7	mg/dL	8.8 - 10.6
	2.4	mmol/L	2.2-2.6
Sódio			
Resultado.	137	mmol/L	136 - 146
Potássio			
Potássio	5.2	mmol/L	3.5 - 5.1
Osmolalidade			
Resultado.	278	mOSM/Kg	260 - 302
ALT (GPT)			
Resultado.	12	U/L	< 34
AST (GOT)			
Resultado.	14	U/L	< 31
Fosfatase Alcalina			
Resultado.	109	U/L	30 - 120
Gama GT			
Resultado.	14	U/L	< 38
Bilirrubina Total			
Resultado.	0.3	mg/dL	0.3 - 1.2
	5.1	µmol/L	5.1-20.5
C.K. (Creatina cinase)			
Creatina cinase (C.K.)	104	U/L	< 145
L.D.H			
Desidrogenase Láctica (L.D.H)	199	U/L	< 247

## 4. Tratamento médico

Tratamento Cirúrgico: A 10/01/19 a doente foi submetida a artroscopia do joelho esquerdo.

Tratamento médico de suporte.

## 5. Tabela Terapêutica – INTERNAMENTO

Medicamento	FF	Dose	Via adm.	Freq.	Horário	Qt.	OBS
<b>Levotiroxina sódica 0.025 mg</b>	Comprimidos	0.025 mg	Oral	1 id	7h	1	Faz na manha da cirurgia
<b>Pantoprazol 40 mg</b>	Comprimidos revestidos	40 mg	Oral	1 id	7h	1	
<b>Nebivolol 5 mg comprimido</b>	Comprimidos	5 mg	Oral	1 id	7h	1	Faz na manha da cirurgia
<b>Bupropiom 150 mg</b>	Comprimidos de liberação modificada	300 mg	Oral	2 id	9h /20h	2	
<b>Clonazepam 2 mg</b>	Comprimidos	2 mg	Oral	1 id	22h	1	
<b>Rilmenidina 1 mg</b>	Comprimidos	1 mg	Oral	1 id	9h	1	
<b>Quetiapina 100 mg</b>	Comprimidos	100 mg	Oral	1 id	22h	1	
<b>Enalapril 20 mg</b>	Comprimidos	20 mg	Oral	1 id	9h	1	
<b>Lercanidipina 10 mg</b>	Comprimidos	10 mg	Oral	1 id	9h	1	
<b>Beta-histina 16 mg</b>	Comprimidos	24 mg	Oral	2 id	10h /21h	2	
<b>Atorvastatina 20 mg</b>	Comprimidos	40 mg	Oral	1 id	22h	2	
<b>Quetiapina 50 mg</b>	Comprimidos	50 mg	Oral	1 id	9h	1	
<b>Loflazepato de etilo 2 mg</b>	Comprimidos	2 mg	Oral	1 id	10h	1	
<b>Sertralina 100 mg</b>	Comprimidos	100 mg	Oral	1 id	9h	1	
<b>Furosemida 40 mg</b>	Comprimidos	40 mg	Oral	1 id	9h	1	
<b>Furosemida 20 mg</b>	Comprimidos	20 mg	Oral	1 id	15h	1	
<b>Buprenorfina 76 ug/h</b>	Sistema transdérmico	40 mg	Transdérmico	96h / 96h	19h	1	
<b>Insulina humana (solúvel) 100 U.I./ ml Ação curta</b>	Suspensão injetável	3 UI	Subcutânea	SOS até 4 id	SOS	1	Se glicemia capilar >160 = 3u
<b>Insulina humana (solúvel) 100 U.I./ ml Ação curta</b>	Suspensão injetável	8 UI	Subcutânea	SOS até 4 id	SOS	1	Se glicemia capilar >300 = 8u
<b>Insulina humana (solúvel) 100 U.I./ ml Ação curta</b>	Suspensão injetável	5 UI	Subcutânea	SOS até 4 id	SOS	1	Se glicemia capilar >200 = 5u
<b>Cefazolina 1000 mg</b>	Pó para solução injetável	1000 mg	Intravenosa	8/8h	7h /15h/ 23h	3	Profilaxia cirúrgica
<b>Metamizol magnésico 575 mg</b>	Cápsulas	575 mg	Oral	3 id	Peq. Almoço, Almoço e Jantar	3	
<b>Tramadol 100 mg/2ml</b>	Solução injetável	100 mg	Intravenosa	SOS 3	SOS até 3 id	3	Adicionar com a metoclopramida no nacl 0,9% 100 ml
<b>Metoclopramida 10 mg/2 ml</b>	Solução injetável	10 mg	Intravenosa	SOS 3	SOS até 3 id	3	Adicionar com o tramadol no nacl 0,9% 100 ml
<b>Cloreto de sódio 9 mg/ml Saco 100 ml</b>	Solução injetável	100 ml	Intravenosa	SOS 3	SOS até 3 id	3	Para diluir o tramadol e a metoclopramida
<b>Enoxaparina sódica 40 mg/ 0.4 ml</b>	Solução injetável	40 mg	Subcutânea	1 id	19h	1	

NOTA: Glicemia Capilar antes das refeições e às 23h.

Glicemia Capilar antes de transporte para o bloco operatório.

## 6. Interações

Fármacos	Interação
<b>Clonazepam Tramadol</b>	O uso concomitante de opióides (tramadol) com benzodiazepínicos (clonazepam) pode resultar em sedação profunda, depressão respiratória, coma e morte. Evitar a toma de tramadol após o jantar, no internamento, pois às 22h a doente toma clonazepam.
<b>Bupropiom Buprenorfina</b>	O uso de bupropiom (antidepressivo atípico inibidor da recaptção de noradrenalina-dopamina) está associado a um risco de convulsões relacionado à dose, que pode ser aumentado pelo uso de buprenorfina (analgésico opióide). Estes agentes são muitas vezes individualmente epileptogénicos e podem ter efeitos aditivos quando combinados. A doente deve estar atenta aos sintomas.
<b>Clonazepam Buprenorfina</b>	A utilização concomitante de buprenorfina (analgésico opióide) com clonazepam (benzodiazepina) pode aumentar o risco de sobredosagem de buprenorfina, levando a depressão respiratória grave, coma e morte. No internamento deve-se estar atento ao aparecimento de sintomas.
<b>Bupropiom Quetiapina</b>	O uso de bupropiom está associado a um risco de convulsões relacionado à dose. O risco pode ser ainda maior quando coadministrado com neurolépticos (quetiapina). A doente deve estar atenta a sintomas durante a manhã (toma conjunta com quetiapina 50 mg e fazer a 2ª toma de bupropiom à tarde para evitar a toma com quetiapina 100 mg).
<b>Bupropiom Sertralina</b>	O uso de bupropiom está associado a um risco de convulsões relacionado à dose. O risco pode ser ainda maior quando coadministrado com outros agentes que podem reduzir o limiar convulsivo, incluindo antidepressivos como a sertralina (inibidor seletivo da recaptção de serotonina). A doente deve estar atenta aos sintomas.
<b>Insulina Quetiapina</b>	A eficácia da insulina pode ser diminuída por certos medicamentos, incluindo antipsicóticos atípicos. Esses medicamentos podem interferir no controle da glicemia, pois podem causar hiperglicemia. Recomenda-se a monitorização clínica rigorosa do controlo da glicemia. Os doentes devem ser aconselhados a notificar o seu médico se a sua glicemia estiver constantemente alta ou se tiverem sintomas de hiperglicémia grave, como sede excessiva e aumento do volume ou da frequência da micção.
<b>Furosemda Pantoprazol</b>	O uso crónico de inibidores da bomba de prótons pode induzir hipomagnesémia, e o risco pode aumentar durante o uso concomitante de diuréticos. Recomenda-se a monitorização dos níveis séricos de magnésio e a toma de suplemento de magnésio.

## 7. Orientação Terapêutica a prosseguir

- Analgesia em SOS e profilaxia tromboembólica;
- Fazer penso no Centro de Saúde de 3 em 3 dias e sempre que repassado;
- Retirar pontos de sutura ao 15º dia pós-operatório;
- Mobilização ativa do joelho;
- Marcha com apoio parcial sobre o membro operado durante 5 dias e depois carga progressiva e conforme tolerada;
- Aplicar gelo 5 vezes por dia durante 15 min.

## 8. Tabela Terapêutica – AMBULATÓRIO EXTERNO

Nome Comercial	FF	Dose	Tipo embalagem	Posologia	Nº embalagens
Enoxaparina Rovi	<b>Solução injetável em seringa pré-cheia</b>	<b>40 mg/0.4 ml</b>	<b>Seringa pré-cheia - 6 unidade(s) - 4 ml</b>	<b>1 injeção por dia</b>	<b>2</b>
Paracetamol Alter	<b>Comprimido</b>	<b>1000 mg</b>	<b>Blister - 18 unidade(s)</b>	<b>1 comprimido de 8 em 8 horas se dor</b>	<b>1</b>
Nolotil	<b>Cápsula</b>	<b>575 mg</b>	<b>Blister - 20 unidade(s)</b>	<b>1 comprimido de 12 em 12 horas se dor</b>	<b>1</b>



## 9. Reconciliação da terapêutica

### Admissão Hospitalar – Serviço Ortopedia A

Caracterização do doente:							
<b>Nome:</b>	M.M.	<b>Pu:</b>	1965.....	<b>Sexo:</b>	Feminino	<b>Etnia:</b>	Caucasiano
<b>Idade:</b>	53	<b>Peso:</b>	---	<b>Altura:</b>	---	<b>IMC:</b>	---
<b>Serviço:</b>	Ortopedia A						
<b>Alergias e intolerâncias alimentares:</b>	Nenhuma						
<b>Dieta:</b>	Hipoglucídica sem sal						
<b>Hábitos de vida:</b>	Sem hábitos tabágicos e alcoólicos Sedentária						
<b>Medicamentos não sujeitos a receita médica e suplementos alimentares:</b>	Nenhum						
<b>Responsável pela medicação</b>	O próprio doente						
<b>Antecedentes pessoais:</b>	Excesso Ponderal Diabetes mellitus tipo I Asma Hipertensão arterial Insuficiência cardíaca Hipotiroidismo Depressão Dor crónica						
<b>Queixas e sintomas:</b>	Dor no joelho						
<b>Diagnóstico:</b>	Gonalgia à esquerda						

Medicamento	FF	Dose	Via adm.	Freq.	Horário
Levotiroxina sódica 0.025 mg	Comprimidos	0.025 mg	Oral	1 id	7h
Pantoprazol 40 mg	Comprimidos revestidos	40 mg	Oral	1 id	7h
Nebivolol 5 mg	Comprimidos	5 mg	Oral	1 id	7h
Bupropioma 150 mg	Comprimidos de libertação modificada	300 mg	Oral	2 id	9h / 20h
Clonazepam 2 mg	Comprimidos	2 mg	Oral	1 id	22h
Rilmenidina 1 mg	Comprimidos	1 mg	Oral	1 id	9h
Quetiapina 100 mg	Comprimidos	100 mg	Oral	1 id	22h
Enalapril 20 mg	Comprimidos	20 mg	Oral	1 id	9h
Lercanidipina 10 mg	Comprimidos	10 mg	Oral	1 id	9h
Beta-histina 16 mg	Comprimidos	24 mg	Oral	2 id	10h / 21h
Atorvastatina 20 mg	Comprimidos	40 mg	Oral	1 id	22h
Quetiapina 50 mg	Comprimidos	50 mg	Oral	1 id	9h
Loflazepato de etilo 2 mg	Comprimidos	2 mg	Oral	1 id	10h
Sertralina 100 mg	Comprimidos	100 mg	Oral	1 id	9h
Furosemida 40 mg	Comprimidos	40 mg	Oral	1 id	9h
Furosemida 20 mg	Comprimidos	20 mg	Oral	1 id	15h
Buprenorfina 76 µg/h	Sistema transdérmico	40 mg	Transdérmico	96h / 96h	19h
Insulina humana	Suspensão injetável	-	Subcutânea	SOS até 4 id	SOS

Dados recolhidos:

- Saco de medicamentos da doente
- Guias de tratamento
- Entrevista com o responsável pela medicação (doente, cuidador)
- Lista de medicamentos no programa informático do hospital de internamentos anteriores

Profissionais responsáveis (assinaturas):

- ✓ Médico: \_\_\_\_\_
- ✓ Enfermeiro: \_\_\_\_\_
- ✓ Farmacêutico: \_\_\_\_\_

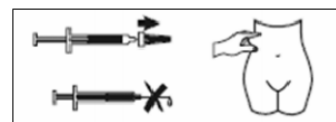
Data: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_

## Alta Hospitalar – Serviço Ortopedia A

- No caso de dor, tomar 1 comprimido de Nolotil (metamizol) de 12 em 12 horas podendo tomar paracetamol entre as tomas de Nolotil se ainda sentir dor (ex: toma o Nolotil, 6 horas depois toma o paracetamol, depois vai tomando de acordo com a posologia o Nolotil (12 em 12h) e o paracetamol (8 em 8h)).

- Fazer uma injeção de enoxaparina 1 vez por dia durante 2 semanas, administrando do seguinte modo:

1. Lavar bem as mãos e sentar ou deitar numa posição confortável.
2. Escolha uma área da cintura, pelo menos a 5 centímetros de distância do umbigo e de cicatrizes existentes ou contusões e limpar a pele com cuidado.
3. Usar lugares diferentes para a injeção em dias diferentes, por exemplo, primeiro no lado esquerdo, da próxima vez à direita.
4. Retirar a tampa da agulha da seringa.
5. Para manter a agulha estéril, certificar que não se toca em nada.
6. A seringa pré-cheia está pronta a ser utilizada. Antes de injetar, não empurrar o êmbolo para se livrar de quaisquer bolhas de ar, porque poderá perder-se medicamento.
7. Segurar a seringa numa mão e com a outra mão, usando o dedo indicador e o polegar, beliscar delicadamente a área da pele que limpa e fazer uma dobra na pele.
8. Inserir o comprimento total da agulha na pele dobrada, em linha reta num ângulo de 90°.
9. Pressionar o êmbolo para baixo, certificando que se mantém a dobra da pele em posição durante toda a injeção. As seringas pré-cheias incluem um sistema automático de segurança que dispara no final da injeção.
10. Remover a agulha puxando-a para fora e soltar a dobra da pele.
11. Não esfregar o local de injeção.



- Fazer penso no Centro de Saúde de 3 em 3 dias e sempre que repassado e retirar pontos de sutura ao 15º dia pós-operatório.

- Mobilização ativa do joelho e marcha com apoio parcial sobre o membro operado durante 5 dias e depois carga progressiva e conforme tolerar.

- Colocar gelo 5 vezes por dia durante 15 minutos no joelho, utilizando um pano para não aplicar diretamente sobre a pele.

- Dada a quantidade de medicamentos aconselha-se o uso de caixas de medicamentos organizadas por dias da semana e por altura do dia: Antes do pequeno-almoço (8.30h), pequeno-almoço (9h), tarde (15h) e noite (22h).

- Dado que os parâmetros analíticos indicam que pode haver agravamento da insuficiência cardíaca, aconselha-se a procurar o seu médico para analisar o caso e evitar uma dieta muito rica em carne a fim de não aumentar mais o valor de azoto urémico.

- Dada a interação entre o Furosemida e o pantoprazol, é aconselhada a toma de um suplemento de magnésio.

-Continuação da toma correta da medicação habitual:

- **Levotiroxina sódica 0.025 mg comprimidos** – Tomar de manhã, em jejum, pelo menos meia hora antes do pequeno-almoço (8.30h).
- **Pantoprazol 40 mg comprimidos revestidos** – Os comprimidos são gastro-resistentes não devem ser mastigados ou partidos, devendo ser engolidos inteiros (8.30h).
- **Nebivolol 5 mg comprimido** – A dose diária é um comprimido de preferência à mesma hora do dia (8.30h).
- **Bupropiom 150 mg comprimidos de libertação modificada** – Os comprimidos têm de ser engolidos inteiros para reduzir o risco de efeitos adversos incluindo convulsões. A insónia é um efeito adverso muito frequente que normalmente é transitório pelo que se deve evitar tomar o medicamento à hora de deitar (9h e 15h).
- **Clonazepam 2 mg comprimidos** – Tomar à noite antes de deitar para ajudar a dormir melhor (22h).
- **Rilmenidina 1 mg comprimidos** – Tomar um comprimido ao pequeno-almoço (9h).
- **Quetiapina 100 mg comprimidos** – Tomar um comprimido à noite pois provoca alguma sonolência (22h).
- **Quetiapina 50 mg comprimidos** – Tomar um comprimido ao pequeno-almoço (9h).
- **Enalapril 20 mg comprimidos** – Tomar um comprimido ao pequeno-almoço (9h).

- **Lercanidipina 10 mg comprimidos** – Tomar um comprimido ao pequeno-almoço (9h).
- **Beta-histina 16 mg comprimidos** – Tomar duas vezes por dia às refeições (9h e 15h).
- **Atorvastatina 20 mg comprimidos** – Tomar 2 comprimidos por dia para perfazer a dose de 40 mg (22h).
- **Loflazepato de etilo 2 mg comprimidos** – Tomar um comprimido ao pequeno-almoço (9h).
- **Sertralina 100 mg comprimidos** – O controlo glicémico deve ser cuidadosamente monitorizado nos doentes em tratamento com sertralina e a dose de insulina e/ou medicamentos hipoglicemiantes orais concomitantes poderão necessitar de ajuste posológico (9h).
- **Furosemida 40 mg comprimidos** – Tomar ao pequeno-almoço (9h).
- **Furosemida 20 mg comprimidos** – Tomar ao lanche da tarde (15h).
- **Buprenorfina 76 ug/h sistema transdérmico 96h** – Colocar um sistema transdérmico a cada 4 dias.
- **Insulina humana** – Em SOS até 4 vezes por dia. Continuar a seguir a recomendação do médico de família.

### Medicação Habitual:

Medicamento	Dose	Freq	Horário	Antes do pequeno-almoço 8.30h	Pequeno-almoço 9h	Tarde 15h	Noite 22h
Levotiroxina sódica 0.025 mg comprimidos	0.025 mg	1 id	8.30h	X			
Pantoprazol 40 mg comprimidos revestidos	40 mg	1 id	8.30h	X			
Nebivolol 5 mg comprimido	5 mg	1 id	8.30h	X			
Rilmenidina 1 mg comprimidos	1 mg	1 id	9h		X		
Loflazepato de etilo 2 mg comprimidos	2 mg	1 id	9h		X		
Sertralina 100 mg comprimidos	100 mg	1 id	9h		X		
Quetiapina 50 mg comprimidos	50 mg	1 id	9h		X		
Enalapril 20 mg comprimidos	20 mg	1 id	9h		X		
Lercanidipina 10 mg comprimidos	10 mg	1 id	9h		X		
Furosemida 40 mg comprimidos	40 mg	1 id	9h		X		
Bupropiom 150 mg comprimidos de libertação modificada	300 mg	2 id	9h / 15h		X (1)	X (1)	
Beta-histina 16 mg comprimidos	24 mg	2 id	9h / 15h		X (1)	X (1/2)	
Furosemida 20 mg comprimidos	20 mg	1 id	15h			X	
Clonazepam 2 mg comprimidos	2 mg	1 id	22h				X
Atorvastatina 20 mg comprimidos	40 mg	1 id	22h				X (2)
Quetiapina 100 mg comprimidos	100 mg	1 id	22h				X
Buprenorfina 76 ug/h sistema transdérmico 96 h	40 mg	De 4 em 4 dias					
Insulina humana	Continuar a seguir a recomendação do médico de família						

### Medicação Temporária:

Nome Comercial	Princípio ativo	Dose	Posologia	Duração
Enoxaparina Rovi	Enoxaparina sódica	40 mg/0.4 ml	1 Injeção por dia	2 Semanas
Nolotil	Metamizol	575 mg	1 Comprimido de 12 em 12 horas se dor	SOS
Paracetamol Alter	Paracetamol	1000 mg	1 Comprimido de 8 em 8 horas se dor	SOS

### Medicação a suspender:

Medicamentos Descontinuados
Cefazolina 1000 mg Pó sol. Inj. Fr IV
Metamizol magnésico 575 mg Cápsulas
Tramadol 100 mg / 2 ml Sol. Inj. Fr 2 ml IM IV SC
Metoclopramida 10 mg/2 ml Sol Inj Fr 2 ml IM IV
Cloreto de sódio 9 mg/ml Sol. Inj. Saco 100 ml IV

Profissionais responsáveis (assinaturas):

- ✓ Médico: \_\_\_\_\_
- ✓ Enfermeiro: \_\_\_\_\_
- ✓ Farmacêutico: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_

## 10. Discussão:

A doente entrou dia 09/01/2019, no serviço de Ortopedia A, para se preparar para a realização de uma artroscopia do joelho esquerdo já agendada. A doente tinha queixas de dor no joelho devido a derrame articular, pelo que ocorre sangramento dentro da articulação havendo acumulação (hemartrose), provocando dor.

Fez-se a avaliação dos sinais vitais sendo que a doente se encontrava afebril, com pulso normocárdico tendo eupneia e tensão arterial normal.

Foi realizada a admissão para se recolher informação relativamente à medicação habitual da doente:

Medicamento	Tratamento
<b>Levotiroxina sódica 0.025 mg</b>	Hipotiroidismo
<b>Pantoprazol 40 mg</b>	Prevenção da formação de úlceras no trato gastrointestinal visto ser uma doente polimedicação
<b>Nebivolol 5 mg</b>	Hipertensão essencial
<b>Bupropiom 150 mg</b>	Episódios depressivos major
<b>Clonazepam 2 mg</b>	Insónia
<b>Rilmenidina 1 mg</b>	Hipertensão essencial
<b>Quetiapina 50 mg/100 mg</b>	Prevenir crises maníacas moderadas a graves
<b>Enalapril 20 mg</b>	Insuficiência Cardíaca
<b>Lercanidipina 10 mg</b>	Hipertensão essencial;
<b>Beta-histina 16 mg</b>	Síndrome de Menière, caracterizado por vertigens, zumbidos e/ou perdas de audição que geralmente são acompanhados de náuseas, otalgias e/ou cefaleias
<b>Atorvastatina 20 mg</b>	Hipercolesterolemia
<b>Loflazepato de etilo 2 mg</b>	Perturbações da ansiedade e sintomas ansiosos
<b>Sertralina 100 mg</b>	Episódios depressivos major
<b>Furosemida 40 mg/20 mg</b>	Tratamento de edemas de origem cardíaca
<b>Buprenorfina 76 ug/h</b>	Dor crónica
<b>Insulina humana</b>	Diabetes <i>Mellitus</i> tipo I

Foram realizadas análises clínicas: citometria, hemóstase e bioquímica. Relativamente aos diversos parâmetros, a doente apresentava uma ligeira anemia visto que o valor da hemoglobina se encontrava ligeiramente baixo, pelo que é o resultado de um hematócrito baixo (baixa percentagem de eritrócitos no sangue). Esta ligeira anemia deve-se a alguma perda de sangue devido ao derrame articular. Na análise bioquímica, a doente apresentava o valor de azoto ureico elevado e de potássio elevado o que pode indicar que a insuficiência cardíaca está a reduzir a perfusão renal diminuindo o fluxo sanguíneo nos rins, o que leva a que filtração glomerular esteja diminuída com retenção de ureia (hiperuricemia). Ao diminuir a taxa de filtração glomerular, diminui a secreção de H<sup>+</sup> e outros ácidos, levando a acidose metabólica

que faz com que o potássio se desloque das células para o sangue (hipercaliémia). A hipercaliémia pode ser perigosa pois pode causar fraqueza muscular, confusão, arritmias e bradicardia podendo levar a paragem cardíaca. Os restantes parâmetros das diferentes análises clínicas encontravam-se dentro dos valores de referência.

Para profilaxia da doença tromboembólica venosa em doentes cirúrgicos de risco moderado a elevado, administrou-se à doente enoxaparina sódica 40 mg/ 0.4 ml (solução injetável) por via subcutânea, 12 horas antes da cirurgia, sendo que iria continuar a fazer uma injeção de enoxaparina 1 vez ao dia durante 2 semanas. A enoxaparina é uma heparina de baixo peso molecular que possui uma atividade anti-fator Xa elevada e uma fraca atividade anti-fator IIa (antitrombina) de forma a prevenir a formação de coágulos de fibrina. Os efeitos secundários mais frequentes são hemorragias, hematoma no local de injeção, urticária, prurido e eritema nos tecidos subcutâneos.

No dia 10/01/19, antes da doente ser submetida à artroscopia, procedeu-se à profilaxia de infeções do pós-operatório pelo que se administrou à doente por via intravenosa 1000 mg de Cefazolina 30 a 60 minutos antes do início da cirurgia, tendo continuado a fazer a toma de 8 em 8h. A cefazolina é uma cefalosporina de primeira geração que possui uma ação bactericida, por inibição da síntese da parede celular da maioria das bactérias Gram-positivo e de muitas Gram-negativo. Embora a artroscopia seja uma técnica pouco invasiva, pode haver infeções por bactérias colonizadoras da pele principalmente *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, de modo que a cefazolina é indicada para evitar a infeção da ferida cirúrgica por estas bactérias de Gram-positivo. O efeito secundário mais comum são erupções cutâneas.

Visto que a doente tem diabetes fez-se a medição da glicemia capilar antes do transporte para o bloco operatório, encontrando-se esta dentro dos valores normais.

No dia 10/01/2019, a doente foi submetida a artroscopia do joelho esquerdo em que o médico realizou pequenas incisões de 1 a 1,5 cm, introduziu o artroscópio e executou técnicas para a regularização de fragmentos instáveis da cartilagem e de estimulação da regeneração. Normalmente, tem duração de 45 minutos a 1 hora.

Após a cirurgia foi prescrito à doente:

Metamizol magnésico 575 mg cápsulas para a dor intensa aguda, 3 vezes ao dia, às refeições (pequeno-almoço, almoço e jantar) para evitar úlceras do trato gastrointestinal. O metamizol é um anti-inflamatório não esteroide com ação analgésica, anti-inflamatória e antipirética que se deve à inibição da síntese das prostaglandinas por inibição competitiva e reversível da ciclooxigenase.

Tramadol 100 mg / 2 ml solução injetável caso a doente ainda se queixe de dores em SOS. O tramadol é um analgésico de ação central agonista dos recetores opióides. Consiste em dois enantiómeros, o isómero (+) é o mais ativo, apresentando uma atividade preferencial nos  $\mu$ -recetores. O isómero (-) potencia o efeito analgésico do isómero (+) e é ativo como inibidor do afluxo de noradrenalina e serotonina, modificando a transmissão dos impulsos da dor. Tem como efeitos secundários muito frequentes náuseas e vómitos e pode também provocar tonturas, dor de cabeça e sonolência. Quanto a interações medicamentosas o uso concomitante de opióides (tramadol) com benzodiazepínicos (clonazepam) pode resultar em sedação profunda, depressão respiratória, coma e morte. Evitar a toma conjunta, pelo que o tramadol não deve ser administrado à noite, pois às 22h a doente toma clonazepam.

Metoclopramida 10 mg/2 ml solução injetável para prevenção de náuseas e vómitos induzidos pelo tramadol. É uma benzamida substituída da classe dos neurolépticos em que a atividade antiemética resulta de dois mecanismos de ação: antagonismo dos recetores dopaminérgico D2 na zona de atuação do quimiorreceptor e no centro emético na medula implicada no vómito e antagonismo dos recetores serotoninérgicos 5-HT3 e agonismo dos recetores 5-HT4 relacionados com o vómito. Tem como efeitos secundários diarreia, hipotensão e depressão.

Cloreto de sódio 9 mg/ ml solução injetável (Saco 100 ml) serve para diluir o tramadol e a metoclopramida. É um veículo para administração parentérica e é isotónico com o sangue, sendo administrado sem afetar a pressão osmótica.

No dia 11/01/19, foi dada alta à doente sendo que esta teve de seguir as recomendações indicadas na carta de alta.

Relativamente às interações medicamentosas, as informações e recomendações encontram-se na tabela, no ponto 7.

## **Parte III**

# **Biotecnologia Aplicada à Doença de Parkinson: Estratégias de Terapia Génica**

**Monografia orientada pelo Professor Doutor Luís Pereira de Almeida**

## Lista de Abreviaturas

**AADC** - Descarboxilase dos L-Aminoácidos Aromáticos

**AAV** - Vírus Adeno-associados

**AAV2** - AAV do serotipo 2

**BHE** - Barreira Hematoencefálica

**DA** - Dopamina

**DBS** - Estimulação Cerebral Profunda

**DP** - Doença de Parkinson

**dsRNA** - RNA de cadeia dupla

**GABA** - Ácido  $\gamma$ -aminobutírico

**GAD** - Descarboxilase do Ácido Glutâmico

**GNDF** - Fator Neurotrófico Derivado Da Linhagem De Células Gliais

**GTPCHI** - Guanosina Trifosfato Ciclohidrolase

**MPTP** - 1-metil-4-fenil 1,2,3,6-tetrahidropiridina

**mRNA** - Ácido Ribonucleico Mensageiro

**NRTN** - Neurturina

**REM** - Movimento Rápido dos Olhos

**RNAi** - Interferência de RNA

**SNc** - Substância nigra pars compacta

**SNCA** -  $\alpha$ -Sinucleína

**siRNA** - Pequeno RNA de Interferência

**TG** - Terapia Génica

**TH** - Tirosina Hidroxilase

**TU** - Unidades de Transdução

**UCHL1** - Ubiquitina Hidrolase Carboxi-Terminal L1

**UPDRS** - Escala Unificada de Avaliação da DP

**vg** - Genomas de Vetor



## **Resumo**

A Doença de Parkinson é uma doença neurodegenerativa progressiva associada ao envelhecimento, pelo que com o aumento da esperança de vida da população mundial, é expectável que o número de casos venha a aumentar nos próximos anos. Como os tratamentos atuais se baseiam no alívio dos sintomas não impedindo a progressão da doença, têm sido estudadas novas estratégias terapêuticas no domínio da terapia génica no sentido de fornecer futuramente novas formas de tratamento, prevenção ou até mesmo uma cura. Para tal, o recurso à entrega de genes por vetores virais emergiu como estratégia altamente promissora tendo já sido aplicada em ensaios clínicos. Estes ensaios clínicos de terapia génica aplicada à doença de Parkinson têm na sua grande maioria demonstrado segurança, pelo que vários dos ensaios clínicos efetuados têm tido seguimento para fases seguintes.

Embora a terapia génica tenha grande potencial para o desenvolvimento de tratamentos inovadores, os resultados clínicos da sua aplicação na doença de Parkinson ainda não demonstraram vantagem significativa quando comparados aos tratamentos atuais. Passos importantes têm sido dados e as técnicas têm sido otimizadas e aperfeiçoadas, pelo que é expectável que nos próximos anos algumas dessas estratégias possam efetivamente demonstrar um benefício clínico.

**Palavras-chave:** Doença de Parkinson, terapia génica, vetores virais, ensaios clínicos

## **Abstract**

Parkinson's disease is a progressive neurodegenerative disease associated with aging. With the increase in life expectancy of the world population, it is expected that the number of cases will increase in the coming years. Current treatments are based on symptom relief not preventing disease progression. Therefore, new therapeutic strategies in the field of gene therapy have been studied aiming at providing future forms of treatment, prevention or even cure. In this way, several strategies resorting to the delivery of genes by viral vectors have been studied, and some of them have already been applied in clinical trials. These trials of gene therapy applied to Parkinson's disease have demonstrated safety, so several of the clinical trials performed have been followed up for subsequent phases.

Although gene therapy shows great potential for innovative treatments, the clinical results of its application in Parkinson's disease have not yet demonstrated a significant advantage when compared to current treatments. Important steps have been taken and techniques have been optimized and improved, and it is expected that in the coming years some of these strategies will effectively demonstrate clinical benefit.

**Keywords:** Parkinson's disease, gene therapy, viral vectors, clinical trials

## I. Introdução

Durante o século XIX, com o surgimento e o desenvolvimento da neurologia, as doenças neurodegenerativas ganharam destaque, sendo que no final deste século se reconheceu a doença de Parkinson como uma patologia, sendo intitulada com esse nome devido ao grande contributo do médico inglês James Parkinson que descreveu na sua obra “*An Essay on the Shaking Palsy*” os sinais visuais da doença e principalmente fez a distinção entre tremor de repouso e outros tremores como tremores provocados pelo álcool, cafeína ou pela senilidade (Duvoisin, 1987). Em 1996, com o mapeamento genético, identificaram-se as primeiras mutações responsáveis por alguns casos de DP, demonstrando assim que esta doença pode ter origem genética e ser transmitida à descendência (Polymeropoulos *et al.*, 1996). A partir de 1996, foram-se sucessivamente identificando várias formas monogénicas da DP e diversos fatores genéticos de risco (Klein and Westenberger, 2012).

A biotecnologia é uma área científica que tem ganho importância crescente nos últimos anos, pelo que se tem observado um grande investimento nesta área que é relativamente recente e onde existem muitas oportunidades de investigação e inovação. Tendo por base que a biotecnologia consiste no uso de sistemas vivos ou materiais biologicamente derivados para desenvolver ou fabricar produtos ou serviços, esta é uma área muito vasta envolvendo vários domínios científicos, desde a biologia molecular e celular, às ciências farmacêuticas, microbiologia, genética, bioinformática, engenharia química, medicina e muitas outras áreas (Sharfstein, 2017; Gartland and Gartland, 2018).

A terapia génica, uma área da Biotecnologia, outrora considerada uma estratégia terapêutica direcionada à cura de doenças monogénicas através da inserção de uma cópia normal do gene deficiente nas células atípicas, hoje é vista como promissora para tratar múltiplas doenças sejam elas genéticas ou adquiridas. Assim a terapia génica é cada vez mais uma abordagem promissora para o tratamento de doenças poligénicas, como por exemplo doenças crónicas relacionadas com o envelhecimento, onde se inclui a doença de Parkinson (Maslova, Koliada and Vaiserman, 2019).

Nesta monografia são analisadas várias estratégias de terapia génica recorrendo a vetores virais e os resultados da sua aplicação em ensaios clínicos.

## **2. A doença de Parkinson**

A doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa, sendo tradicionalmente considerada um distúrbio do sistema motor, que atinge o sistema nervoso central, periférico e entérico do ser humano. Entre as principais causas apontadas encontra-se a degenerescência do sistema nigroestriatal e a depleção de dopamina cortical e tegmentar (O'Donnell *et al.*, 1987; Braak and Braak, 2000).

### **2.1. Epidemiologia**

A doença de Parkinson é uma doença que maioritariamente se manifesta entre os 65 e os 70 anos de idade, sendo que o início precoce desta doença se deve a variantes genéticas (Tysnes and Storstein, 2017). A seguir à doença de Alzheimer, a doença de Parkinson é a segunda doença neurodegenerativa mais comum na população mundial (Checkoway *et al.*, 2011). O risco de ter DP é maior no género masculino do que no feminino (Wooten, 2004). Nas populações ocidentais, os indivíduos do sexo masculino têm uma probabilidade cerca de 1,5 vezes superior de desenvolver a doença do que os indivíduos do sexo feminino (Taylor, *et al.*, 2007).

Na América do Norte, a prevalência em indivíduos com mais de 45 anos de idade é de 572 casos por 100 000 habitantes (Marras *et al.*, 2018). Na Europa a prevalência varia entre 108 a 257 casos por 100 000 habitantes, sendo que aproximadamente 11 a 19 novos casos surgem por ano por cada 100 000 habitantes, o que corresponde à taxa de incidência. No caso de se considerar apenas grupos etários com idade superior a 60 anos, as taxas de prevalência e incidência sofrem um aumento significativo, 1280 a 1500 casos por 100 000 habitantes e 346 novos casos por ano por cada 100 000 habitantes, respetivamente (Von Campenhausen *et al.*, 2005). Em Portugal, a prevalência é de 180 casos por 100 000 habitantes e apesar de Portugal ser uma área geográfica em que a mutação causal para DP é frequente na população, esta não implica uma elevada prevalência (Ferreira *et al.*, 2017).

### **2.2. Fisiopatologia**

A DP é uma doença neurodegenerativa que causa danos no citoesqueleto neuronal, sendo seletiva para os neurónios dopaminérgicos, apresentando um padrão de lesões maioritariamente simétrico e bilateral. Os neurónios mais afetados são os que se encontram no sistema límbico e no sistema motor, que desenvolvem corpos de Lewis nas neurites e corpos celulares, em particular nos axónios dos neurónios (Braak and Braak, 2000).

A DP caracteriza-se por uma degenerescência dos neurónios dopaminérgicos na substância nigra pars compacta. A dopamina é um neurotransmissor envolvido em diversas funções fisiológicas que ao ligar-se aos seus recetores D1, D2, D3, D4 e D5, regula a atividade motora bem como outros processos como a proliferação e a diferenciação celular (Mishra, Singh and Shukla, 2018). Assim a perda de neurónios produtores de dopamina culmina numa drástica depleção de dopamina no estriado, sendo acompanhada pela deposição de agregados de proteínas nomeadamente  $\alpha$ -sinucleína, ubiquitina hidrolase carboxi-terminal LI (UCHL1) e parkina. Por fim ocorre gliose e morte celular (Lotharius and Brundin, 2002; Baba, Nakajo et al., 1998).

Nos indivíduos com mutação nos genes que codificam a  $\alpha$ -sinucleína, ocorre perda de função desta proteína que passa a ter um efeito tóxico levando a uma acumulação de dopamina no citoplasma dos neurónios, que por sua vez provoca stress oxidativo nos terminais nigroestriatais, formando-se substâncias tóxicas e agregados de proteínas que conduzem à morte dos neurónios. Mutações nos genes que codificam a parkina e a UCHL1 contribuem também para a acumulação de dopamina no citoplasma, reduzindo a depuração das formas tóxicas de  $\alpha$ -sinucleína, pelo que estas últimas vão permeabilizar as vesículas que iriam armazenar a dopamina para ser libertada no terminal pré-sináptico (Lotharius and Brundin, 2002). A neurodegenerescência seletiva que ocorre na DP também se relaciona com outros processos intracelulares, tais como disfunção mitocondrial, excitotoxicidade ou alterações envolvendo fatores neurotróficos (Olanow and Tatton, 1999).

### **2.3. Caraterísticas clínicas**

A DP é tradicionalmente conhecida pelos sinais motores que causa que são classicamente definidos como sinais cardinais. Estes sintomas constituem uma síndrome conhecida por Parkinsonismo que tem como principais caraterísticas os tremores em repouso, a rigidez muscular, a lentidão a iniciar os movimentos bem como na sua execução (bradicinesia) e a instabilidade postural (Hoehn and Yahr, 1967). Os doentes apresentam no início da doença, sinais físicos unilaterais como tremor em repouso, rigidez ao movimento passivo, lentidão de movimento e movimentos limitados (hipocinesia). Com o evoluir da doença as manifestações tornam-se bilaterais e podem culminar em instabilidade postural (Clarke, 2007).

Ao nível dos sintomas não motores estes incluem a fadiga, os sintomas neurológicos como apatia, ansiedade, alucinações, delírios e demência; os sintomas que afetam a autonomia tais como disfunção urinária, prisão de ventre, suor excessivo e sialorreia (aumento involuntário do fluxo salivar); os distúrbios do sono como insónia, distúrbio comportamental

REM e síndrome das pernas inquietas; e disfunção sensorial onde se incluem parestesias (perda da sensibilidade nervosa resultando em dormências), hiposmia (perda de olfato) e alterações visuais (Massano and Bhatia, 2012). Os sintomas não motores podem surgir muitos anos antes dos sinais motores, sendo que a obstipação e os distúrbios do sono podem surgir cerca de 20 e 10 anos antes, respetivamente. Já as alterações cognitivas e demência manifestam-se na fase avançada da doença (Getz and Levin, 2017).

## 2.4. Tratamento

Atualmente existem várias alternativas terapêuticas disponíveis para o tratamento da DP tais como a fisioterapia, as terapias invasivas e a terapêutica medicamentosa que é a mais amplamente utilizada (Klietz *et al.*, 2019). São aconselhadas também terapias complementares como a terapia da fala e a terapia ocupacional que vão permitir uma maior autonomia ao doente na sua vida quotidiana (Rizek, Kumar and Jog, 2016).

A terapêutica farmacológica para o tratamento da DP, tem como principal alvo molecular os recetores da dopamina mas existem outros alvos como o recetor N-metil-D-aspartato e as enzimas catecol-O-metiltransferase, descarboxilase dos aminoácidos aromáticos e monoamina oxidase-B. Várias classes farmacológicas têm sido utilizadas para tratar os sintomas da DP, como os precursores da dopamina, os agonistas da dopamina, os inibidores da monoamina-oxidase, os inibidores da enzima catecol-O-metiltransferase e os antagonistas dos recetores N-metil-D-aspartato (Abbott, 2010; Hubble, 2002; Klietz *et al.*, 2019). O tratamento mais amplamente utilizado é o tratamento farmacológico recorrendo a um precursor da dopamina, a levodopa (L-DOPA) que é o fármaco de eleição na maioria dos casos (Schapira, 2005). A levodopa é um pró-fármaco, sendo um precursor da dopamina com capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE) que é depois ativado pela dopadecarboxilase, permitindo uma melhoria da bradicinesia e da rigidez muscular. Devido ao facto desta molécula ser metabolizada no sangue por ação de enzimas como a descarboxilase dos aminoácidos aromáticos que a converte em dopamina, a sua semi-vida é muito curta, aproximadamente de uma hora. Além disto, esta dopamina pode provocar efeitos colaterais periféricos. Para contornar este problema a partir dos anos 70, introduziu-se a carbidopa que inibe essa enzima a nível periférico, aumentando a semi-vida para 90 minutos e deste modo aumentando a L-DOPA disponível para chegar ao cérebro (Abbott, 2010).

Quanto aos tratamentos cirúrgicos, a estimulação cerebral profunda (DBS) é o procedimento mais utilizado atualmente devido a ter um perfil de segurança mais favorável relativamente à palidotomia e talamotomia (Lee *et al.*, 2018).

## 2.5. Fatores de risco e hereditariedade

A DP é uma condição multifatorial, com vários fatores de risco. Os fatores não genéticos e ambientais continuam a ser os mais associados como responsáveis pelo aparecimento da DP. Há evidências que sugerem que a exposição crônica a substâncias como ferro, cobre, manganês, mercúrio, zinco e chumbo está associada à DP, podendo atuar sozinhos ou em conjunto ao longo do tempo (Gorell *et al.*, 1997). Também a exposição ocupacional a pesticidas e herbicidas tem sido apontada como associada ao aparecimento da DP (Gorell *et al.*, 1998). Por outro lado, existem fatores que parecem não estar associados à DP, tais como a exposição à radiação ionizante, a história familiar de tremor essencial ou de arteriosclerose e a história anterior de encefalite, hipertensão, hipotensão, sarampo, rubéola ou gripe espanhola (Semchuk *et al.*, 1993). A ingestão de café bem como de cafeína está associada a uma menor incidência de DP (Ross, 2000). Apesar do tabagismo ser um fator de risco para múltiplas doenças, no caso da DP este não pode ser considerado pois vários estudos têm concluído que este até pode exercer uma reduzida proteção biológica (Gorell *et al.*, 1999; Liou *et al.*, 1997).

Durante muitos anos pensava-se que a DP era uma doença não genética com origem idiopática, porém 5% a 10% dos casos são associados a formas monogénicas da doença (Lesage and Brice, 2009). Diversos estudos apontam que um fator de risco é a história de DP em parentes de primeiro e segundo grau (Semchuk *et al.*, 1993; Taylor *et al.*, 1999). Com a evolução da genética molecular têm-se descoberto fatores genéticos e loci génicos relacionados às formas de DP autossómica dominante ou autossómica recessiva (Tabela I). Também polimorfismos e repetições de trinucleótidos são reconhecidos como genes de DP ou fatores de suscetibilidade para DP (Emamzadeh and Surguchov, 2018).

**Tabela 1:** Genes envolvidos na Doença de Parkinson não idiopática. (Adaptada de Kalinderi, Bostantjopoulou and Fidani, 2016; Emamzadeh and Surguchov, 2018).

Locus	Localização no cromossoma	Gene	Doença	Padrão de herança
PARK1	4q21	<i>SNCA</i>	DP de início precoce	AD
PARK2	6q25.2-q27	<i>Parkin</i>	DP de início precoce	AR
PARK3	2p13.2	<i>SPR</i>	DP clássica	AD
PARK4	4q21	Triplicação da <i>SNCA</i>	DP de início precoce	AD
PARK5	4p14	<i>UCHL1</i>	DP clássica	AD
PARK6	1p35-p36	<i>PINK1</i>	DP de início precoce	AR
PARK7	1p36.23	<i>DJ1</i>	DP de início precoce	AR
PARK8	12q12	<i>LRRK2</i>	DP clássica	AD
PARK9	1p36	<i>ATP13A2</i>	Síndrome de Kufor-Rakeb; DP atípica com demência, espasticidade e paralisia do olhar supranuclear	AR
PARK10	-	-	-	-
PARK11	2q37	<i>GIGYF2</i>	DP de início tardio	AD
PARK12	Xq21-q25	<i>TAF1</i>	DP clássica	RX
PARK13	2p12	<i>HTRA2</i>	DP clássica	AD
PARK14	22q13.1	<i>PLA2G6</i>	Parkinsonismo/distonia de início precoce	AR
PARK15	22q12-q13	<i>FBXO7</i>	Síndrome parkinsoniano-piramidal de início precoce	AR
PARK16	1q32	Múltiplos locais independentes	DP clássica	AD
PARK17	16p12.1-q12.1	<i>VPS35</i>	DP clássica	AD
PARK18	3q27	<i>EIF4G1</i>	DP clássica	AD
PARK19	1p32	<i>DNAJC6</i>	DP atípica de início juvenil	AR
PARK20	21q22	<i>SYNJ1</i>	DP atípica de início juvenil	AR
PARK21	3q22	<i>DNAJC13</i>	DP de início tardio	AD
Legenda	AD – Autossômico dominante AR – Autossômico recessivo RX – Herança recessiva ligada ao cromossoma X			

## 2.6. Modelos de doença de Parkinson

As causas da DP ainda não são claras, pelo que têm sido realizados muitos estudos recorrendo a modelos experimentais da doença de modo a recolher mais informação sobre os mecanismos patológicos e estratégias de tratamento da doença. Os modelos mais amplamente utilizados são os modelos animais, *in vivo*, em que se utilizam neurotoxinas de forma a induzir as características patológicas e/ou fenotípicas da DP (Tabela 2). Outros modelos mais recentes têm recorrido à genética, permitindo criar modelos transgênicos. Na grande maioria dos estudos, os investigadores têm dado preferência à investigação em roedores e em macacos. Também outros animais têm sido alvo para pesquisas como a mosca da fruta



(*Drosophila melanogaster*), o peixe zebra (*Danio rerio*) e o verme *Caenorhabditis elegans*, devido à sua utilização ser menos dispendiosa embora os resultados e conclusões não sejam tão transponíveis para o ser humano (Blandini and Armentero, 2012).

**Tabela 2:** Principais modelos de Doença de Parkinson baseados em toxinas. (Adaptado de Jagmag *et al.*, 2016).

Composto	6-OHDA	MPTP	Rotenona	Paraquato
Administração	Injeção direta na SNc, no FMP ou no estriado.	Sistémica	Sistémica	Sistémica
Mecanismo de lesão	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Promove a formação de peróxido de hidrogénio, espécies reativas de oxigénio e quininas por auto-oxidação.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bloqueia a cadeia de transporte de eletrões inibindo o complexo mitocondrial I.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bloqueia a cadeia de transporte de eletrões inibindo o complexo mitocondrial I;</li> <li>• Bloqueia a mitose e inibe a proliferação celular.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Promove a formação de espécies reativas de oxigénio.</li> </ul>
Vantagens	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Formação de lesões reprodutíveis;</li> <li>• Perda de neurónios dopaminérgicos maior na SNc do que no ATV.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Formação de lesões reprodutíveis;</li> <li>• Perda de neurónios dopaminérgicos maior na SNc do que no ATV;</li> <li>• Degeneração maior nos terminais nervosos para o putamen;</li> <li>• Possível administrar via sistémica.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Formação de lesões reprodutíveis;</li> <li>• Perda de neurónios dopaminérgicos maior na SNc do que no ATV;</li> <li>• Formação de corpos de Lewy;</li> <li>• Possível administrar via sistémica.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Formação de lesões nos neurónios dopaminérgicos da SNc;</li> <li>• Formação de corpos de Lewy;</li> <li>• Possível administrar via sistémica.</li> </ul>
Desvantagens	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Afeta tanto o transporte dopaminérgico como o noradrenérgico;</li> <li>• Não ocorre formação de corpos de Lewy;</li> <li>• Injeção direta.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Não ocorre formação de corpos de Lewy.</li> <li>• Não se observam os comportamentos típicos de DP.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alta mortalidade dos roedores usados como modelos de DP.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• As alegações de efeito no sistema DA nigroestriatal têm sido variáveis.</li> </ul>
Legenda	6-OHDA – 6-hidroxi-dopamina ATV – Área tegmental ventral DA – Dopamina FMP – Feixe medial do prosencéfalo MPTP – 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina SNc – Substância nigra pars compacta			

### 3. A terapia génica aplicada ao tratamento da doença de Parkinson

A terapia génica (TG) pode vir a ser uma alternativa aos tratamentos convencionais, quer farmacológicos ou cirúrgicos. A terapia farmacológica tem a finalidade de melhorar os sintomas motores, mas tem limitações pois a sua eficácia é limitada no tempo e pode provocar efeitos adversos tais como alucinações, comprometimento cognitivo, sonolência e até hipotensão. Por outro lado, a estimulação cerebral profunda (DBS) ao utilizar um dispositivo implantado no doente que tem de ser substituído periodicamente, acarreta o risco de complicações cirúrgicas entre as quais se destacam as infeções. A palidotomia ocasiona também os riscos associados ao procedimento cirúrgico. Deste modo, tanto a terapia farmacológica como a terapia cirúrgica têm limitações significativas permitindo apenas uma melhoria dos sintomas, não alterando a progressão da doença (Witt and Marks, 2011).

A TG tem o objetivo de tratar doenças através da modificação da função celular ou biológica, utilizando para tal um agente como um gene ou, mais genericamente, material genético onde se inclui o DNA e o RNA. A TG pode classificar-se em duas categorias: 1) TG *ex vivo*, onde as células são modificadas geneticamente em cultura celular para expressarem uma ou várias proteínas de interesse, e posteriormente essas células são transplantadas no doente; e 2) TG *in vivo*, onde se insere diretamente nas células do doente a informação genética (Allen and Feigin, 2013).

A administração de material genético pode ser feita por injeção direta no tecido ou por via sistémica, em qualquer um dos casos recorrendo a um vetor. Apesar da injeção direta ser mais segura relativamente a outros métodos, implica um processo invasivo de injeção no cérebro. Por outro lado a injeção sistémica de genes livres torna-se pouco eficaz devido à degradação mediada por nucleases do soro e à eliminação pelo sistema fagocitário mononuclear (Niidome and Huang, 2002).

Nas doenças neurodegenerativas onde se inclui a DP, o órgão alvo é o cérebro e implica o recurso a vetores que transportem o material genético ao espaço intracelular das células do cérebro (Allen and Feigin, 2013). Para que o vetor possa entrar no cérebro, necessita de atravessar a BHE, localizada nos capilares do parênquima cerebral, que é constituída por células endoteliais cerebrais, conectadas por junções coesivas, que juntamente com a lâmina basal, pericitos e pedicelos astrocíticos, formam a unidade neurovascular (Banks, 2016). Assim a BHE é uma barreira seletiva que controla a entrada de substâncias para o interior do cérebro, sendo que as moléculas podem utilizar duas vias de entrada. A via paracelular em que iões e solutos passam por difusão passiva de acordo com o gradiente de concentração, sendo que apenas pequenas moléculas lipossolúveis e com peso molecular menor que 400 Daltons são capazes de penetrar. A via transcelular por sua vez inclui

diferentes mecanismos, tais como a difusão passiva, o transporte mediado por recetores e a transcitose (Dong, 2018). Dado o difícil acesso ao interior do cérebro, os vetores mais bem-sucedidos são as nanopartículas e os vetores virais. Porém dada a baixa eficiência de transfecção do material genético contido nas nanopartículas, os vetores virais são os mais utilizados nos estudos de terapia génica em doenças neurodegenerativas (Pérez-Martínez, Carrión and Ceña, 2012).

Ao nível do tratamento da DP, as estratégias *in vivo* têm sido as mais utilizadas, nomeadamente as que recorrem a vetores virais para o transporte e introdução de genes específicos nos neurónios do doente (Allen and Feigin, 2013).

### **3.1. Libertação de genes mediada por vetores virais**

Os vetores virais recombinantes têm sido extensamente usados como veículos para inserir material genético em células do sistema nervoso, tirando partido da capacidade que os vírus têm para infetarem células, sendo que é removida a sua capacidade de replicar ou de provocar danos à célula hospedeira (Manfredsson, 2016).

A TG com recurso a vetores virais pode ser genericamente descrita em várias etapas. Inicialmente é necessário recorrer a biologia molecular/ engenharia genética para remover os genes patogénicos e envolvidos na replicação convertendo assim o vírus selvagem num vetor recombinante. Em seguida, recorrendo mais uma vez a biologia molecular vai-se inserir o gene de interesse – ou transgene – no genoma do vetor de transferência. Por último, introduzem-se os plasmídeos obtidos em células que irão transcrever e traduzir o DNA transfectado, produzindo os vetores virais. Os vetores virais transportam assim a cassete génica terapêutica em vez do genoma viral. De seguida, o vetor é administrado no organismo, em local próximo ou distante das células alvo onde por fim, ocorre a transdução do gene de interesse nas células que passam assim a expressar o transgene (Merten, Hebben and Bovolenta, 2016; Clément and Grieger, 2016; Kay, Glorioso and Naldini, 2001).

Existem atualmente ainda algumas limitações da utilização de vetores virais como os altos custos e dificuldades associados à sua produção, assim como preocupações ligadas à imunogenicidade e segurança dos vetores virais, sobretudo quando seja necessário repetir a sua administração (Dong, 2018). No passado (1999 e 2000) ocorreram dois casos de acidentes com adenovírus e retrovírus que levaram à morte de doentes em ensaios clínicos de TG (Herzog, 2010; Gelsinger and Shamoo, 2008).

Na terapia génica aplicada ao tratamento de doenças neurodegenerativas pretende-se que haja estabilidade de expressão do transgene nas células de interesse após uma única

administração. Tal pode não ocorrer devido à inativação do promotor, à perda física de sequências do vetor, a efeitos citotóxicos ou à resposta por parte do sistema imunitário face a proteínas estranhas, produtos transgênicos ou proteínas virais. Os vetores virais utilizados devem ter elevada eficiência de transdução do transgene nas células alvo, seletividade para transduzir as células alvo, ausência de patogenicidade e baixa imunogenicidade (Costantini et al., 2000).

O vetor ideal deveria ter um tropismo específico para o tecido lesado, nomeadamente os neurónios da substância nigra, no caso da DP, permitir uma transdução altamente eficiente nessas células alvo e mínima noutras células, tecidos ou órgãos não alvos. Deveria também proporcionar uma expressão do transgene por um período de tempo e num nível adequado de forma a viabilizar o efeito terapêutico máximo e a minimizar os efeitos colaterais, tais como patologias associadas ao vetor e a resposta imune por parte do hospedeiro. Por fim, a sua produção deve reger-se pelas *guidelines* para aplicação terapêutica e ser passível de transposição de escala, para que seja possível obter a quantidade suficiente e com um grau de pureza adequado à sua utilização em humanos (Lentz, Gray and Samulski, 2012). Vários vetores virais têm sido utilizados em TG baseados em adenovírus, vírus adeno-associados (AAV), alphavírus, flavivírus, vírus *Herpes simplex*, vírus do sarampo, retrovírus, lentivírus, vírus da doença de Newcastle, poxvírus e picornavírus (Lundstrom, 2018). Na tabela 3 encontram-se referidas as principais características dos vírus mais utilizados em terapia génica e na tabela 4 encontram-se mencionadas as suas vantagens e desvantagens.

**Tabela 3:** Características dos vetores virais mais utilizados em terapia génica. (Adaptado de Lundstrom, 2018, Bouard, Alazard-Dany and Cosset, 2009 e Chen, Keiser and Davidson, 2018)

Vetores	Genoma	Integração no genoma	Capacidade de inserção	Potencial inflamatório	Tropismo	Genotoxicidade
Retrovírus <i>Retroviridae</i>	ssRNA	Sim	9 kb	Baixo	Células em divisão	Integração pode induzir oncogénese
Lentivírus <i>Retroviridae</i>	ssRNA	Sim	9 kb	Alto	Ambas	Baixa
Adenovírus <i>Adenoviridae</i>	dsDNA	Não	7.5 kb / 30 kb	Alto	Ambas	Baixa
AAV <i>Parvoviridae</i>	ssDNA	Sim mas em muito baixa extensão	<5 kb	Baixo	Ambas	Não deve ser subestimado. Precisa de mais investigação

**Tabela 4:** Vantagens e desvantagens de alguns vetores virais mais utilizados em terapia génica.

Vetores	Vantagens	Desvantagens	Referências
<b>Retrovírus</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Expressão do transgene estável e permanente;</li><li>• Baixa imunogenicidade.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Risco elevado de mutagénese insercional e ativação de oncogenes;</li><li>• Só infeta células em divisão.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Sinn, Sauter and McCray, 2005.</li></ul>
<b>Lentivírus</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Capacidade de infetar células em divisão ou não;</li><li>• Alta eficiência de transdução e estabilidade de expressão do transgene;</li><li>• Expressão permanente a longo-prazo;</li><li>• Baixa imunogenicidade.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Risco de mutagénese insercional.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Connolly, 2002;</li><li>• Sinn, Sauter and McCray, 2005.</li></ul>
<b>Adenovírus</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Capacidade de infetar células em divisão ou não;</li><li>• Alta capacidade de inserção de genes;</li><li>• Não-oncogénico;</li><li>• Pode ser produzido em altos títulos;</li><li>• Baixa patogenicidade.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Elevada imunogenicidade;</li><li>• Expressão transiente.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Schiedner <i>et al.</i>, 1998;</li><li>• Chen, Keiser and Davidson, 2018;</li><li>• Warnock, Daigre and Al-Rubeai, 2011.</li></ul>
<b>AAV</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Capacidade de infetar células em divisão ou não;</li><li>• Elevada eficiência na transdução do gene alvo;</li><li>• Baixa patogenicidade.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Risco de mutagénese insercional, embora bastante baixo;</li><li>• Limitação do tamanho dos genes a inserir;</li><li>• Divisão celular afeta o genoma do AAV.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Chen, Keiser and Davidson, 2018;</li><li>• Tsukasa Ohmori, 2018;</li><li>• Warnock, Daigre and Al-Rubeai, 2011.</li></ul>

Na DP os retrovírus não são os vetores de eleição para terapia *in vivo* devido à sua falta de segurança e à sua incapacidade de infetar células que não estão em divisão celular, o que é o caso da grande maioria dos neurónios. Por sua vez, os adenovírus também não têm grande utilidade devido a induzirem elevada resposta inflamatória. (Kay, Glorioso and Naldini, 2001). Deste modo, os AAV e os lentivírus são os que se mostram mais vantajosos como vetores para TG em doenças neurodegenerativas (Allen and Feigin, 2013).

Os lentivírus induzem uma resposta inflamatória mínima, permitem a expressão a longo prazo do transgene e a possibilidade de oncogenicidade é bastante reduzida, devido à integração não ter preferência por oncogenes e ao facto dos neurónios alvo serem tipicamente pós-mitóticos. Por sua vez os AAV têm demonstrado uma grande segurança na sua utilização, sendo que o risco de imunogenicidade é bastante baixo quando inserido no cérebro, e o risco de mutagénese insercional é extremamente reduzido sobretudo pelo facto da maioria do DNA permanecer epissómico. Como os AAV e os lentivírus não atravessam a BHE, os ensaios clínicos de TG na DP têm recorrido a infusão direta do vetor viral em locais específicos dos

circuitos neuronais motores, envolvendo a realização de uma craniotomia (Allen and Feigin, 2013).

Os vetores AAV são os mais amplamente utilizados nos estudos de terapia génica sendo que existem vários serotipos com diferentes perfis de transdução e capacidade de ligação a recetores. A cápside do AAV é fulcral para o sucesso da terapia envolvendo este vetor, pois determina o tropismo, a capacidade de distribuição nos tecidos e a capacidade de induzir uma resposta imune por parte do hospedeiro. Nos estudos que envolvem alvos no interior do cérebro, o AAV do serotipo 2 (AAV2) é aquele que tem sido mais amplamente utilizado devido ao facto de permitir uma expressão génica a longo prazo nos neurónios e de ter uma biodistribuição reduzida permitindo que o vírus fique restrito à área de interesse (Deverman *et al.*, 2018).

### **3.1.1. Terapias sintomáticas**

As terapias sintomáticas têm como objetivo reduzir os sintomas clínicos da doença, pelo que não alteram o curso da doença. Assim permitem melhorar os sintomas motores cardinais da DP, assim como os sintomas não motores (Sudhakar and Richardson, 2018).

#### **3.1.1.1. AAV-GAD**

Nos mamíferos, no sistema nervoso central estão presentes o glutamato e o ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), neurotransmissores respetivamente excitatório e inibitório. Nos neurónios pré-sinápticos os neurotransmissores são carregados em vesículas sinápticas, que após a receção do estímulo nervoso, ocorre a despolarização com a sua libertação na fenda sináptica, onde os neurotransmissores se difundem e interagem com recetores específicos na membrana do neurónio pós-sináptico desencadeando alterações nos canais iónicos celulares. A enzima descarboxilase do ácido glutâmico (GAD) nos neurónios inibitórios é responsável pela conversão do glutamato em GABA (Federoff, 2003).

Na DP ocorre perda progressiva de neurónios dopaminérgicos, ou seja, as projeções dopaminérgicas da substância nigra pars compacta para o estriado são perdidas, ocorrendo uma diminuição da dopamina estriatal que leva a redução da neurotransmissão de GABA, pelo que ocorre dominância da neurotransmissão glutamatérgica no interior do núcleo subtalâmico. Juntamente com a desinibição direta do estriado, ocorre um aumento da neurotransmissão de glutamato, o que leva a um aumento da excitação da substância nigra pars compacta com aumento concomitante da atividade das projeções excitatórias para o globo pálido interno e

para a substância nigra pars reticularis, desencadeando assim os vários sintomas motores da DP (Federoff, 2003).

A GAD é uma enzima que catalisa a síntese de GABA a partir do glutamato. Deste modo, uma estratégia terapêutica consiste na sobreexpressão da GAD, de forma a reduzir a atividade do núcleo subtalâmico e assim diminuir os sintomas motores (Emborg *et al.*, 2006).

Emborg e os seus colaboradores realizaram um estudo onde fizeram a entrega subtalâmica do vetor AAV codificando o gene da GAD, (AAV-GAD), em macacos-rhesus adultos, tendo depois observado os resultados durante 1 ano. Os resultados revelaram que durante o período do estudo o AAV-GAD mostrou-se eficaz no aumento da função cerebral devido a um aumento do metabolismo da glicose e também ao aumento da expressão de GAD. Por outro lado revelou-se seguro e sem ocorrência de efeitos adversos (Emborg *et al.*, 2006). Este estudo em primatas não humanos, abriu caminho a um ensaio clínico em doentes. Assim, no ensaio clínico aberto, não randomizado, de fase I conduzido por Kaplitt *et al.* foi administrada uma injeção subtalâmica unilateral, do vetor viral AAV-GAD, a 11 homens e 1 mulher com DP avançada. Foram feitos 3 grupos: dose baixa ( $1 \times 10^{11}$  vg/mL), média ( $3 \times 10^{11}$  vg/mL) e alta ( $1 \times 10^{12}$  vg/mL), sendo o volume final injetado de 50  $\mu$ L. Os resultados demonstraram segurança na utilização do AAV-GAD visto que não houve eventos adversos nem toxicidade relacionados com a terapia génica, no período perioperatório, após um ano de tratamento e nos doentes que continuaram a ser seguidos por mais um ou dois anos. Também foram observadas melhorias dos sintomas motores 3 meses após a administração, tendo-se mantido até ao fim de um ano, predominantemente no lado do corpo contralateral ao local da administração. Uma vantagem desta abordagem relativamente à DBS é a ausência de *hardware* interno diminuindo o risco de infeções e não serem necessárias visitas regulares para fazer ajustes da estimulação. Este estudo sugere ainda que a terapia génica *in vivo* no cérebro de um indivíduo adulto pode ser segura para várias doenças neurodegenerativas (Kaplitt *et al.*, 2007).

Num ensaio clínico posterior, duplo-cego, randomizado, de fase II, realizado entre 17 de novembro de 2008 e 11 de maio de 2010, nos EUA foram selecionados indivíduos com idade compreendida entre 30 e 75 anos com DP e com uma pontuação superior ou igual a 25 na Escala Unificada de Avaliação da DP (UPDRS). Realizou-se o seguimento de 45 doentes dos quais se analisaram os resultados para 16 doentes submetidos a infusão bilateral do AAV2-GAD no núcleo subtalâmico e para 23 doentes submetidos à mesma cirurgia mas sem a infusão do AAV2-GAD que funcionou como controlo. LeWitt e os seus colaboradores verificaram que aos 6 meses, os doentes do grupo AAV2-GAD tiveram uma redução de 8,1 pontos na UPDRS enquanto no grupo de controlo apenas ocorreu uma redução de 4,7 pontos. Os

resultados deste ensaio clínico sustentam a eficácia e segurança da infusão bilateral de AAV2-GAD no núcleo subtalâmico, mostrando o potencial desta técnica como futuro tratamento (LeWitt *et al.*, 2011).

Posteriormente, foi realizado um estudo de seguimento de longo prazo aos doentes do estudo anterior por 12 meses. Com este estudo verificou-se que as melhorias dos scores na UPDRS se mantêm durante os 12 meses nos doentes que receberam a infusão com AAV2-GAD. Também nestes doentes ocorreu uma redução da duração das discinesias induzidas pela levodopa. Porém o benefício desta terapia revelou-se inferior ao alcançado com outras terapias nomeadamente com a DBS (Niethammer *et al.*, 2017).

### 3.1.1.2. AAV-AADC

O tratamento inicial da DP baseado na reposição da dopamina é eficaz no controlo dos sintomas motores nos indivíduos com DP. A sequência da descarboxilase dos L-aminoácidos aromáticos (AADC) codifica a enzima AADC que é responsável pela conversão da L-DOPA endógena e exógena (proveniente de terapia farmacológica) em dopamina (Majláth *et al.*, 2016). Com a progressão da doença, a perda dos neurónios nigroestriatais leva a uma redução dos níveis da enzima AADC, o que resulta numa diminuição dos níveis de dopamina (Ichinose *et al.*, 1994). Assim torna-se necessário aumentar as doses de levodopa que vai progressivamente deixando de ser eficaz surgindo flutuações e discinesias. Uma estratégia de TG para contornar este problema baseia-se na utilização dum vetor AAV que transporta o gene da AADC de forma a restabelecer os níveis de AADC e assim aumentar a conversão de L-DOPA em dopamina. O AAV-AADC funciona como um pro-fármaco que vai aumentar a eficácia do tratamento com levodopa. Esta estratégia por um lado aumenta a eficácia do tratamento e por outro lado pode permitir reduzir a dose de levodopa e desta forma são reduzidos os efeitos secundários associados ao tratamento com elevadas doses de levodopa (Majláth *et al.*, 2016).

Um ensaio clínico de fase I realizado nos EUA, incluiu 5 doentes com DP moderada a avançada, que foram submetidos a uma infusão bilateral de uma dose baixa ( $9 \times 10^{10}$  vg) do vetor AAV2-AADC no putamen, tendo sido avaliada a expressão génica no início do ensaio, um mês e seis meses após o início. Este estudo evidenciou que a administração dos AAVs conduziu a expressão génica sustentada e demonstrou ser segura (Eberling *et al.*, 2008). Este ensaio foi posteriormente continuado e no estudo de Christine *et al.* 10 doentes com DP moderada a avançada, com idade compreendida entre os 57 e 71 anos, receberam o vetor AAV-AADC através de infusão intraputamina bilateral. Os doentes foram divididos em dois grupos que foram seguidos durante 5 anos, um sujeito a alta dose ( $3 \times 10^{11}$  vg) e o outro sujeito a baixa dose ( $9 \times 10^{10}$  vg) do vetor AAV2-AADC. Os resultados mostraram que ocorreu um



aumento na expressão de AADC de 75% e 30%, no grupo de alta dose e de baixa dose, respetivamente. O estudo permitiu concluir que esta terapia apresentou segurança e uma melhoria na pontuação na UPDRS de aproximadamente 30%, fornecendo evidências de classe IV (baixa qualidade da evidência indicando pouca confiança nos resultados sendo o estudo pouco robusto). Porém o procedimento cirúrgico está associado a um risco aumentado de hemorragia intracraniana e cefaleia autolimitada (Christine *et al.*, 2009). Um estudo de longo prazo foi feito tendo por base os doentes do estudo anterior, sendo que os doentes foram acompanhados durante 4 anos. No final do estudo concluiu-se que a terapia foi segura e que durante os 4 anos se manteve a expressão génica de AADC. Verificaram também que a quantidade de neurónios que expressam o gene é dependente da dose de vetor, suportando assim os dados não clínicos. Este estudo sugere que uma dose mais elevada de vetor pode ser necessária para aumentar a eficácia da terapia. Relativamente à UPDRS, ocorreu uma melhoria significativa nas pontuações nos primeiros 12 meses do estudo, seguida por uma ligeira redução pelo que Mittermeyer *et al.* consideraram que o efeito placebo pode ter influenciado pelo menos em parte, uma vez que na DP o efeito placebo tem sido bem documentado (Mittermeyer *et al.*, 2012).

No Japão, um ensaio clínico de fase I, com duração de 12 semanas incluiu 6 doentes com idades entre 45 e 75 anos, com DP moderada a avançada. Nestes doentes, à semelhança do estudo anterior foi realizada uma infusão intraputamina bilateral do vetor AAV2-AADC ( $3 \times 10^{11}$  vg). A nível do procedimento cirúrgico, este foi bem tolerado pelos doentes, sendo que um doente teve uma hemorragia venosa que foi completamente resolvida e apenas uma cefaleia ligeira e transitória durante os dois dias seguintes ao procedimento foi relatada por todos os doentes. Também foi registado nas análises laboratoriais destes doentes, um ligeiro aumento da concentração dos anticorpos neutralizantes anti-AAV2 até 6 meses após o início da terapia, sendo que a partir daí, a concentração foi normalizando para os valores basais. Este estudo demonstrou que a terapia foi segura, e que ocorreram melhorias motoras no estado *off-medication* de cerca de 46% nas pontuações na UPDRS, porém não ocorreram alterações claras na resposta de curta duração à levodopa. Quanto à expressão génica esta manteve-se por 96 semanas. Este ensaio clínico fornece evidências de classe IV quanto à segurança e eficácia da terapia génica recorrendo ao vetor AAV2-AADC (Muramatsu *et al.*, 2010).

Mais recentemente, num ensaio clínico de fase I, no qual foram incluídos 15 doentes com DP avançada e com flutuações refratárias, foi feita a infusão bilateral no putamen de VY-AADC01 (AAV2-AADC) coadministrado com gadoteridol usando orientação por ressonância magnética intraoperatória. Os doentes foram distribuídos em três coortes: dose baixa ( $7,5 \times 10^{11}$  vg), média ( $1,5 \times 10^{12}$  vg) e alta ( $4,7 \times 10^{12}$  vg) e foram analisados no início do estudo

e após 6 meses. Os resultados revelam uma cobertura putaminal de 21% (coorte 1), 34% (coorte 2) e 42% (coorte 3), também um aumento da atividade enzimática de 13%, 56% e 79% e uma redução na medicação antiparkinsoniana de -15%, -33% e -42%, respetivamente, aos 6 meses. O efeito adverso mais referido pelos doentes foram as cefaleias e durante o ensaio clínico ocorreu um aumento transitório das discinesias, que foram solucionadas através da redução da dose dos medicamentos que os doentes tomavam para controlar a DP. Aos 12 meses eram evidentes as melhorias clínicas na pontuação na UPDRS nas coortes 2 e 3. A terapia foi bem tolerada pelos doentes, revelou que o aumento na expressão enzimática e as melhorias clínicas foram dependentes da dose, e que esta terapia é promissora como tratamento para indivíduos com DP (Christine *et al.*, 2019). Dois ensaios clínicos estão em curso sendo um deles um estudo de longo prazo e o outro um estudo randomizado de fase II, controlado por cirurgia placebo, para avaliação da eficácia e segurança de VY-AADC02 na doença de Parkinson avançada com flutuações motoras.

### **3.1.1.3. LV-GTPCHI-TH-AADC**

A terapia ProSavin baseia-se na utilização de um vetor lentiviral que codifica três genes que, por sua vez, codificam uma enzima: a tirosina hidroxilase (TH), a guanosina trifosfato ciclodrolase (GTPCHI) e a descarboxilase dos L-aminoácidos aromáticos (AADC). Estas enzimas estão envolvidas na síntese de dopamina (DA) endógena. A enzima GTPCHI catalisa a conversão da guanosina trifosfato (GTP) em tetrahydrobiopterina (BH4) que é um cofator para a enzima TH que converte a tirosina proveniente da dieta em levodopa (L-DOPA), que depois através da ação da AADC é metabolizada na DA. Esta estratégia de terapia génica permite aumentar a L-DOPA endógena que por sua vez se reflete no aumento do nível de DA no estriado. Esta terapia recorre aos neurónios do estriado remanescentes para a produção de dopamina, não estando dependente da sobrevivência dos neurónios dopaminérgicos (Majláth *et al.*, 2016).

Um ensaio clínico aberto de fase I/II foi realizado com o intuito de estudar a segurança e eficácia do ProSavin, que foi administrado por injeção bilateral no putamen, em 15 doentes com idade entre 48 e 65 anos e com DP há 5 ou mais anos. Os doentes foram divididos em três coortes conforme a dose do vetor LV-GCH-TH-AADC que receberam: dose baixa ( $1,9 \times 10^7$  unidades de transdução [TU]); dose média ( $4,0 \times 10^7$  TU); e alta dose ( $1 \times 10^8$  TU) e foram acompanhados durante 12 meses nos centros de estudo que integraram este ensaio clínico em França e no Reino Unido. Ao longo deste estudo foram relatados 54 eventos adversos, dos quais 51 leves e 3 moderados sendo o mais comum as discinesias *on-medication*, que foram resolvidas através de uma redução da dose na medicação habitual. Não foram

relatados eventos adversos graves, quer em relação ao medicamento ProSavin quer em relação ao procedimento cirúrgico. Foram realizadas análises imunológicas tendo estas revelado a ausência de anticorpos contra qualquer um dos transgenes do ProSavin. Porém 4 doentes da coorte sujeita a alta dose, desenvolveram anticorpos em baixo nível contra a proteína do envelope VSV-G e destes 4 doentes, 3 desenvolveram anticorpos contra a proteína p26. Por análise de ressonância magnética, verificou-se que nenhum destes doentes apresentou respostas inflamatórias. Quanto à eficácia, ocorreu uma melhoria significativa das pontuações motoras na UPDRS, contudo a magnitude dos efeitos é aproximada ao efeito placebo descrito noutros ensaios clínicos recorrendo a procedimento cirúrgico na DP. Existem no entanto, indícios que quanto maior a dose administrada, maior o nível de atividade dopaminérgica, o que permite melhores pontuações motoras na UPDRS e uma redução na medicação dopaminérgica (Palfi *et al.*, 2014).

Os doentes que participaram no ensaio clínico anterior continuaram a ser acompanhados, pelo que continuaram num estudo de acompanhamento a longo prazo em que se avaliaram três doentes aos 48 meses, seis aos 36 meses, nove aos 24 meses e quinze aos 12 meses de seguimento. Nestes doentes, não foi relatada nenhuma morte nem novos problemas relacionados a esta terapia, demonstrando assim segurança. Ao nível da eficácia, esta terapia mostra-se eficaz até 4 anos após o tratamento (Palfi *et al.*, 2014). O estudo foi continuado pelo que 15 doentes foram acompanhados por períodos que variaram de 5 a 8 anos após o início do ensaio clínico, pelo que o ProSavin continuou a demonstrar segurança e também melhorias moderadas no que respeita ao comportamento motor na maioria dos doentes (Palfi *et al.*, 2018).

### **3.1.2. Terapias neuro-restaurativas**

As terapias neuro-restaurativas surgem como alternativa às terapias sintomáticas que se limitam a tratar ou atenuar os sintomas de DP, em que apenas ocorre uma melhoria nos sintomas e não um tratamento efetivo da doença, dado que não atuam na perda progressiva de neurónios dopaminérgicos nigroestriatais. Assim as terapias neuro-restaurativas têm o objetivo de diminuir a progressão da doença através da intervenção nos mecanismos subjacentes à doença, permitindo uma abordagem mais efetiva (Sudhakar and Richardson, 2018).

### 3.1.2.1. GDNF

O fator neurotrófico derivado da linhagem de células gliais (GDNF) é um homodímero glicosilado, ligado por pontes de dissulfeto, que promove a sobrevivência e a diferenciação dos neurónios dopaminérgicos. Este fator tem demonstrado potencialidade para tratamento da DP, uma vez que é capaz de prevenir a degenerescência dos neurónios dopaminérgicos e por outro lado, permite aumentar a atividade dos neurónios dopaminérgicos remanescentes (Lin *et al.*, 1993).

Um ensaio clínico de fase I/2, multicêntrico, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, foi concebido para avaliar a eficácia e segurança da infusão contínua intraputamina de GDNF humano recombinante (liatermin) em 34 doentes com DP idiopática. Dos 34 doentes, 17 doentes receberam 15 µg/putamen/dia de liatermin através de cateteres intraparenquimatosos bilaterais, sendo que os outros 17 doentes pertenceram ao grupo do placebo. Os resultados não revelaram melhorias significativas nas pontuações na UPDRS quando comparados com o placebo. Também quanto à segurança, esta terapia mostrou-se incerta, tendo ocorrido eventos adversos sérios relacionados com o cateter, o que levou a que este fosse removido num doente e reposicionado em outros dois. Ao nível da imunogenicidade, detetaram-se anticorpos neutralizantes anti-liatermin em três doentes. Este estudo não demonstrou benefício clínico devido aos resultados negativos evidenciados (Lang *et al.*, 2006). A utilização de vetores virais pode ser uma alternativa aos problemas relacionados com a infusão contínua utilizando cateteres.

Várias outras estratégias têm sido testadas em modelos animais, nomeadamente em primatas não-humanos. Um estudo recorreu ao vetor lentiviral, tendo sido injetado lenti-GDNF simultaneamente no corpo estriado e na substância nigra de macacos rhesus idosos e adultos, sendo que estes últimos foram sujeitos a tratamento com MPTP de forma induzir um modelo de DP. Os resultados demonstraram que nos macacos idosos houve um aumento da função dopaminérgica e que nos macacos sujeitos ao MPTP os défices funcionais foram revertidos e ocorreu uma preservação dos neurónios nigroestriatais. Também se verificou a manutenção da expressão génica a longo prazo (Kordower, 2000). Outros estudos foram desenvolvidos, envolvendo vetores AAV. No estudo de Johnston *et al.* o vetor AAV2-GDNF foi administrado a macacos rhesus idosos. Dos 14 macacos, 3 receberam baixa dose ( $1,1 \times 10^{12}$  vg/ml) por infusão putamina, 5 receberam alta dose ( $1,1 \times 10^{13}$  vg/ml) por infusão putamina, 3 receberam alta dose ( $1,1 \times 10^{13}$  vg/ml) por infusão na substância nigra e 3 receberam uma infusão de solução salina tamponada com fosfato (PBS). A partir deste estudo constatou-se que ocorreu uma melhoria na atividade locomotora dos animais idosos e que a terapia foi segura (Johnston *et al.*, 2009). Outro estudo recorrendo ao AAV2-GDNF foi realizado mas

envolvendo também macacos rhesus como modelos de DP, sendo que a terapia também se revelou segura e não se verificaram respostas imunológicas contra o vetor. Porém os animais que receberam a infusão de AAV2-GDNF na substância nigra sofreram uma significativa perda de peso, pelo que a administração neste local suscita algumas dúvidas quanto à aplicabilidade no ser humano (Su *et al.*, 2009).

Em 2012 iniciou-se um ensaio clínico de fase I, aberto, com o objetivo de estudar a segurança e a eficácia da transferência génica do vírus AAV2-GDNF em 13 doentes com DP avançada. Dos 13 doentes, 6 receberam baixa dose ( $9 \times 10^{10}$  vg), 6 receberam uma dose média ( $3 \times 10^{11}$  vg) e 1 recebeu uma dose elevada ( $9 \times 10^{11}$  vg). A terapia foi bem tolerada e mostrou segurança. A cobertura putaminal alcançada pelo fluido infundido foi cerca de 26% do volume putaminal, não havendo diferença significativa entre as 3 coortes. Quanto às pontuações na UPDRS permaneceram estáveis sem alterações clínicas (Heiss *et al.*, 2019).

### **3.1.2.2. AAV-NRTN**

A neurturina (NRTN) é um análogo estrutural e funcional do GDNF, que tem a capacidade de se ligar aos recetores do GDNF, GFRa1 e GFRa2. Esta proteína à semelhança do GDNF tem a capacidade de melhorar a sobrevivência e a função dos neurónios, protegendo-os da degeneração. Dadas estas características, a NRTN tem sido utilizada em terapia génica, pelo que se tem estudado a utilização de vetores virais AAV2 que codificam a NRTN humana (AAV2-NRTN), de modo a que ocorra a transdução do gene nos neurónios e assim aumente a produção de NRTN, obtendo-se os seus benefícios neuroregenerativos (Hickey and Stacy, 2012).

Marks e os seus colaboradores conduziram um ensaio clínico aberto de fase I, envolvendo 12 indivíduos com idades entre os 37 e os 75 anos com DP, que foram acompanhados neste estudo ao longo de pelo menos 12 meses. Os doentes receberam infusões bilaterais estereotáxicas e intraputaminais de AAV2-NRTN (CERE-120), tendo sido feitos dois grupos de 6 indivíduos que receberam uma dose baixa ( $1,3 \times 10^{11}$  vg) ou alta ( $5,4 \times 10^{11}$  vg) do vetor. Este estudo revelou que a terapia foi segura e que permitiu obter melhorias da função motora dos doentes e um aumento de 2 a 3 horas no tempo sem discinesias incómodas. Verificou-se que não houve diferenças relevantes entre os resultados obtidos com altas e com baixas doses de vetor (Marks *et al.*, 2008). No seguimento deste estudo, foi desenvolvido um ensaio clínico de fase II, multicêntrico, duplo-cego e controlado por cirurgia placebo, numa população de 58 indivíduos com idade entre os 35 e os 75 anos, com DP idiopática avançada. Dos 58 doentes envolvidos, 38 pertenceram ao grupo que foi sujeito a infusão bilateral no putamen de AAV2-NRTN, e 20 pertenceram ao grupo onde se

realizou a cirurgia mas que não receberam o vetor AAV2-NRTN. Os resultados mostraram não haver um benefício significativo da terapia recorrendo a AAV2-NRTN relativamente à cirurgia placebo. Quanto à segurança, ocorreram eventos adversos graves em 13 doentes do grupo que recebeu o vetor e em 4 doentes do grupo controlo. Também houve o desenvolvimento de tumores em 3 doentes do grupo que recebeu o vetor e em 2 doentes do grupo controlo, não se podendo descartar a hipótese de que o tratamento recorrendo ao AAV2-NRTN possa induzir ou acelerar o crescimento de tumores. Deste modo os investigadores defendem a necessidade da realização de um estudo de acompanhamento a longo prazo e realçam a importância de ser feito um estudo em que a administração do vetor seja direcionada para a substância nigra (Marks *et al.*, 2010).

Bartus *et al.* conduziram um ensaio clínico aberto para averiguar a segurança e tolerabilidade da administração bilateral do vetor AAV2-NRTN no putamen e na substância nigra de indivíduos com DP, sendo que estes foram acompanhados ao longo de 2 anos. Neste estudo, 6 doentes foram divididos em dois grupos de acordo com a dose a receber, sendo que ambos os grupos receberam a mesma dose na substância nigra ( $4,0 \times 10^{11}$  vg), mas um dos grupos recebeu uma dose cerca de 4 vezes superior no putamen ( $24,0 \times 10^{11}$  vg) relativamente ao outro grupo ( $5,4 \times 10^{11}$  vg). Não foram relatados efeitos adversos graves e os doentes não desenvolveram resposta imune contra o AAV2 nem contra a NRTN, o que evidencia a segurança da terapia. Também não ocorreu perda de peso nos doentes, contrariando o que alguns estudos pré-clínicos apontavam como um evento associado à administração de fatores neurotróficos (GDNF e NRTN) na substância nigra (Bartus *et al.*, 2013).

**Tabela 5:** Ensaios clínicos realizados ou em curso, envolvendo estratégias de terapia génica aplicadas à DP (ClinicalTrials.gov, 2019).

Estratégia de Terapia Génica	Identificação ClinicalTrials	Breve descrição	Fase	Responsável	País	Duração	Publicação
AAV-GAD	NCT00195143	Estudo de segurança da transferência do gene GAD para o núcleo subtalâmico em doentes com DP clinicamente refratários.	I	Neurologix, Inc.	USA	08/2003 - 08/2005	Kaplitt <i>et al.</i> , 2007
AAV-GAD	NCT00643890	Estudo de segurança e eficácia de avaliação da transferência do gene GAD para o núcleo subtalâmico em doentes com DP avançada.	II	Neurologix, Inc.	USA	08/2008 - 12/2010	LeWitt <i>et al.</i> , 2011
AAV-GAD	NCT01301573	Estudo observacional de acompanhamento de longo prazo dos indivíduos tratados com AAV-GAD.	-	Neurologix, Inc.	USA	01/2011 -	-
AAV-AADC	NCT00229736	Estudo aberto de segurança da infusão intraestriatal do AAV-AADC em indivíduos com DP.	I	Genzyme, a Sanofi Company	USA	11/2004 - 03/2013	Christine <i>et al.</i> , 2009
AAV-AADC	NCT01973543	Estudo aberto de segurança e eficácia do VY-AADC01 administrado no putamen de indivíduos com DP com respostas flutuantes à levodopa.	I	Neurocrine Biosciences	USA	10/2013 - 12/2019	Christine <i>et al.</i> , 2019
AAV-AADC	NCT02418598	Estudo de avaliação da segurança e eficácia da infusão intraputamina de AAV2-AADC administrado por cirurgia estereotáxica em indivíduos com DP avançada.	I/II	Jichi Medical University	Japão	04/2015 - 01/2022	Muramatsu <i>et al.</i> , 2010
AAV-AADC	NCT03065192	Estudo de segurança e eficácia do VY-AADC01 administrado por infusão convectiva guiada, no putamen de indivíduos com DP com respostas flutuantes à levodopa.	I	Neurocrine Biosciences	USA	02/2017 - 12/2021	-
AAV-AADC	NCT03562494	Estudo para avaliação da eficácia e segurança de VY-AADC02 na DP avançada com flutuações motoras.	II	Neurocrine Biosciences	USA	06/2018 - 12/2020	-
AAV-AADC	NCT03733496	Estudo observacional de longo prazo para os participantes que concluíram os estudos VY-AADC01 ou VY-AADC02.	-	Neurocrine Biosciences	USA	11/2018 - 08/2026	-
LV-GCH-TH-AADC	NCT00627588	Estudo de segurança, eficácia e avaliação da dose do ProSavin, administrado através de injeção estereotáxica no estriado de indivíduos com DP idiopática bilateral.	I/II	Oxford BioMedica	França e Reino Unido	01/2008 - 08/2012	Palfi <i>et al.</i> , 2014

**Tabela 5:** Ensaios clínicos realizados ou em curso, envolvendo estratégias de terapia génica aplicadas à DP (ClinicalTrials.gov, 2019). (Continuação)

Estratégia de Terapia Génica	Identificação ClinicalTrials	Breve descrição	Fase	Responsável	País	Duração	Publicação
LV-GCH-TH-AADC	NCT01856439	Estudo de longo prazo para avaliar a tolerabilidade, segurança e eficácia do ProSavin.	-	Oxford BioMedica	França e Reino Unido	05/2011 - 05/2022	Palfi <i>et al.</i> , 2014
AAV-GDNF	NCT00115427	Estudo de eficácia e segurança da infusão intraputamina de liatermin (15mg / putamen / dia) em relação ao placebo em indivíduos com DP.	I	Amgen Inc.	USA	03/2003 -	-
AAV-GDNF	NCT00111982	Estudo de eficácia a longo prazo da infusão contínua intraputamina de liatermin.	I/II	Amgen Inc.	USA	12/2003 - 02/2006	Lang <i>et al.</i> , 2006
AAV-GDNF	NCT00148369	Registo de segurança observacional de indivíduos com DP.	-	Amgen Inc.	USA	11/2006 - 09/2007	-
AAV-GDNF	NCT01621581	Estudo de segurança e eficácia da transferência génica do vírus AAV-GDNF em indivíduos com DP avançada.	I	National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS)	USA	03/2012 - 12/2027	Heiss <i>et al.</i> , 2019
AAV-NRTN	NCT00252850	Estudo de segurança e tolerabilidade da administração intraestriatal de AAV-NRTN, em indivíduos com DP idiopática.	I	Ceregene	USA	06/2005 - 03/2007	Marks <i>et al.</i> , 2008
AAV-NRTN	NCT00400634	Estudo de segurança e tolerabilidade da administração bilateral intraputamina de AAV-NRTN, em indivíduos com DP idiopática.	II	Ceregene	USA	11/2006 - 11/2008	Marks <i>et al.</i> , 2010
AAV-NRTN	NCT00985517	Estudo de segurança e a eficácia da administração bilateral intraputamina e intranigral de AAV-NRTN, em indivíduos com DP idiopática.	I/II	Sangamo Therapeutics	USA	09/2009 - 03/2018	Bartus <i>et al.</i> , 2013



### 3.2. Interferência de RNA

A terapia gênica por interferência de RNA (RNAi) baseia-se num mecanismo celular natural que regula a expressão de genes e previne o ataque de vírus e outros elementos ao genoma. Este mecanismo tem bastante potencial para tratamento da DP, dado que permite silenciar genes específicos. A RNAi é um mecanismo celular que atua no RNA mensageiro (mRNA), ocorrendo deste modo um silenciamento gênico pós-transcricional (Lin *et al.*, 2017).

A RNAi é desencadeado quando a célula detecta um RNA longo de cadeia dupla (dsRNA), que pode ser produzido por exemplo por um transgene introduzido ou libertado por um vetor viral. O mecanismo inicia-se com a atuação da enzima Dicer que cliva o dsRNA em pequenos RNAs de interferência (siRNA) com aproximadamente 22 nucleótidos. Os siRNA são incorporados na forma ativa a um complexo intracitoplasmático, o complexo de silenciamento induzido por RNA (RISC), que hibridiza com a sequência de nucleótidos complementar localizada no mRNA-alvo, permitindo o silenciamento, por inibição da tradução e/ou pela degradação do mRNA, impedindo a produção da proteína codificada pelo mRNA. Um siRNA cataliza a degradação de centenas de mRNA (Hannon, 2002; Novina and Sharp, 2004)

Um estudo de longo prazo teve como objetivo investigar o silenciamento da  $\alpha$ -sinucleína (SNCA) em ratos adultos sem neurodegenerescência. Estes receberam a administração, unilateral na substância nigra, do vetor AAV-sh (SNCA) (um vetor de interferência de RNA tendo como alvo o mRNA da SNCA) ou AAV-sh (Ctrl) (um vetor controle). Os resultados mostraram que não houve toxicidade nem disfunções motoras, no entanto ocorreu alguma perda da expressão de TH. Estes resultados contribuem para aumentar a confiança nas técnicas de RNAi (Zharikov *et al.*, 2019).

O investigador Khodr e os seus colaboradores estudaram o silenciamento do gene da SNCA humana usando AAV-micro30-hSNCA que foram administrados na substância nigra de ratos, tendo demonstrado a sua capacidade de induzir melhorias no comportamento dos membros anteriores dos animais bem como uma redução na perda de neurónios dopaminérgicos. Porém devido à ocorrência de inflamação e à redução da expressão da TH, a utilização desta estratégia permanece incerta para aplicação no tratamento da DP em humanos (Khodr *et al.*, 2014).

Alguns estudos têm sido desenvolvidos recorrendo a nanopartículas que encapsulam siRNA e que contribuem para uma melhor compreensão dos efeitos da aplicação do mecanismo da RNAi. Um estudo *in vitro* conduzido por Liu e a sua equipa, teve o objetivo de caracterizar nanopartículas de polietilenoglicol-polietilenoimina (PEG-PEI) como vetores de

libertação de siRNA contra a SNCA em células PC12. Os resultados revelaram que os complexos PEG-PEI/siSNCA apresentavam baixa citotoxicidade, alta eficiência de transfecção, suprimindo a expressão do SNCA-mRNA protegendo as células da apoptose induzida por MPTP (Liu *et al.*, 2013). No estudo *in vivo* de Helmschrodt *et al.*, siRNAs contra a SNCA foram complexados em nanopartículas de PEI F25-LMW que permite aumentar a eficácia de transfecção da administração de siRNA *in vivo*. O composto foi injetado no ventrículo lateral no cérebro de murganhos que sobreexpressavam a SNCA humana e 5 dias após a injeção de PEI/siRNA, ocorreu uma diminuição de 65% da expressão de mRNA da SNCA no estriado, pelo que ocorreu uma redução de 50% na formação da proteína SNCA. Os resultados mostraram que não ocorreram efeitos tóxicos nem adversos nos animais, o parênquima cerebral encontrava-se preservado e não ocorreu o desenvolvimento de reação imunológica. Este estudo sustenta a eficácia e segurança da entrega de siRNA mediada por nanopartículas de PEI contribuindo para uma possível aplicabilidade desta terapia no ser humano futuramente (Helmschrodt *et al.*, 2017).

O mecanismo de RNAi também tem sido utilizado na pesquisa de um biomarcador específico para detetar a forma esporádica de DP. Um estudo recorreu a fibroblastos de doentes com DP e linhas celulares com *knock-down* de PINK1 como controlo, para estudar as alterações da expressão da SCNA. As alterações de expressão das duas linhagens de células tem potencial como biomarcador possibilitando um novo caminho para o diagnóstico não invasivo da PD (Hoepken *et al.*, 2008).

A investigação de Yñigo-Mojado *et al.* centrou-se em três mutações no gene *LRRK2* (R1441G, R1441C e G2109S, sendo esta última a mais prevalente) e permitiu identificar shRNAs que foram capazes de se direcionar especificamente para os alelos R1441G e R1441C com 80% de eficiência de silenciamento. Este estudo sugere a possibilidade de desenvolvimento de uma abordagem para o tratamento da DP hereditária (de Yñigo-Mojado, Martín-Ruiz and Sutherland, 2011).

As terapias baseadas na RNAi têm vindo a ser extensivamente investigadas com potencial aplicabilidade clínica, mas ainda não foram realizados ensaios clínicos em humanos.

#### **4. Patentes**

Na última década tem-se assistido a um aumento das patentes relacionadas com TG aplicada à DP, o que revela que estas terapias têm vindo a ganhar mais interesse quer por parte dos investigadores quer por parte das empresas que financiam os projetos. Na tabela 6, encontram-se compiladas as patentes registadas no âmbito de TG.

**Tabela 6:** Patentes registradas envolvendo estratégias de terapia gênica (worldwide.espacenet.com, 2019).

Patente	Identificação	Inventor	Requerente	Ano
US2002091094 (A1) — 2002-07-11	Composição e métodos utilizados para distribuir o AAV-GAD no núcleo subtalâmico dos gânglios da base, mesafilia e tálamo.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• During Matthew</li> <li>• Kaplitt Michael</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• During Matthew</li> <li>• Kaplitt Michael</li> <li>• Thomas Jefferson University</li> <li>• Neurologix, Inc</li> </ul>	2002
US2010104537 (A1) — 2010-04-29	Métodos para tratamento da DP e para administrar vetores virais no Sistema nervoso central (SNC).	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bankiewicz Krys</li> <li>• Cunningham Janet</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Univ. California</li> <li>• Genzyme Corp</li> </ul>	2010
US2011207802 (A1) — 2011-08-25	Composição e métodos utilizados para distribuir o AAV-GAD no hipocampo, núcleo subtalâmico dos gânglios da base, mesafilia e tálamo.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• During Matthew</li> <li>• Kaplitt Michael</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Neurologix Inc [Us]</li> </ul>	2011
JP2018198622 (A) — 2018-12-20	Genoma do vetor AAV que codifica AADC para tratar a DP.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Robert Kotin</li> <li>• Kells Adrian Philip</li> <li>• Bernard Ravina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Voyager Therapeutics Inc</li> </ul>	2018
AU2019202498 (A1) — 2019-05-02	Composição e métodos para a preparação, fabricação e uso terapêutico de 5 polinucleotídeos codificando AADC para o tratamento da DP.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kotin Robert</li> <li>• Kells Adrian Philip</li> <li>• Ravina Bernard</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Voyager Therapeutics Inc</li> </ul>	2019
US2019060425 (A1) — 2019-02-28	Composição e métodos para a preparação, fabrico e uso terapêutico de polinucleotídeos codificando AADC para o tratamento da DP.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Scheel Maria</li> <li>• Ravina Bernard</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Voyager Therapeutics Inc</li> </ul>	2019
US2019054158 (A1) — 2019-02-21	Composição e métodos para a preparação, fabrico e uso terapêutico de polinucleotídeos codificando AADC para o tratamento, profilaxia ou melhoria de doenças, condições e/ou sintomas resultantes da deficiência de AADC e erros inatos relacionados do metabolismo de neurotransmissores.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kotin Robert;</li> <li>• Kells Adrian Philip</li> <li>• Ravina Bernard</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Voyager Therapeutics Inc</li> </ul>	2019
US2013281975 (A1) — 2013-10-24	Vetor lentiviral para utilização no tratamento de uma condição neurológica.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Widdowson Peter;</li> <li>• Ralph Scott</li> <li>• Mitrophanous Kyriacos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Oxford Biomedica</li> </ul>	2013
ES2628419 (T3) — 2017-08-02	Estrutura compreendendo uma sequência nucleotídica que codifica a TH, uma sequência nucleotídica que codifica GTPCHI e uma sequência nucleotídica que codifica a AADC. O vetor viral contendo essas sequências nucleotídicas e a sua utilização no tratamento e/ou prevenção da DP.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mitrophanous Kyriacos</li> <li>• Ralph Scott</li> <li>• Stewart Hannah</li> <li>• Kingsman Alan</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Oxford Biomedica</li> </ul>	2017

**Tabela 6:** Patentes registradas envolvendo estratégias de terapia gênica (worldwide.espacenet.com, 2019). (Continuação)

Patente	Identificação	Inventor	Requerente	Ano
US6245330 (B1) — 2001-06-12	Composição de adenovírus recombinantes compreendendo uma sequência de DNA heteróloga que codifica GDNF.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Horellou Philippe</li> <li>• Mallet Jacques</li> <li>• Perricaudet Michel</li> <li>• Revah Frederic</li> <li>• Vigne Emmanuelle</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aventis Pharma Sa</li> </ul>	2001
KR20040039316 (A) — 2004-05-10	Composição e métodos usando sistemas de administração de vetores AAV contendo o material genético que codifica o GDNF, em indivíduos com doenças neurodegenerativas como a DP.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ozawa Kei</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ozawa Kei</li> </ul>	2004
EP2019683 (A2) — 2009-02-04	Método e sistema de libertação direta de fatores de crescimento no SNC (GDNF/NRTN).	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bankiewicz Krystof</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Univ. California</li> </ul>	2009
US2011245798 (A1) — 2011-10-06	Método de tratamento da DP por administração crônica de GDNF diretamente no putamen, utilizando uma bomba implantável e pelo menos um cateter.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gill Steven</li> <li>• Gash Don</li> <li>• Gerhardt Greg Allen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amgen Inc;</li> <li>• Kentucky Res Foundation</li> </ul>	2011
EP2210617 (A1) — 2010-07-28	Método e composições para terapia gênica <i>in vivo</i> em indivíduos com DP. Também se refere à utilização de células de mamíferos produtoras de neurturina recombinante e à sua utilização terapêutica.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tornoee Jens</li> <li>• Rosenblad Carl</li> <li>• Wahlberg Lars</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nsgene As</li> </ul>	2006
US2004219671 (A1) — 2004-11-04	Métodos e reagentes usados para modular genes de DP como PARK1, PARK2, PARK7 e/ou PARK5, envolvendo o seu uso em terapêutica, diagnóstico, validação de alvos e aplicações de pesquisa genômica. Inclui siNA, siRNA, dsRNA, miRNA e shRNA capazes de fazer mediação de RNAi contra o gene da SNCA.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mcswiggen James</li> <li>• Haeberli Peter</li> <li>• Chowrira Bharat</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sirna Therapeutics Inc</li> </ul>	2004
WO2005045034 (A2)		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mcswiggen James</li> <li>• Haeberli Peter</li> <li>• Beigelman Leonid</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sirna Therapeutics Inc;</li> <li>• Mcswiggen James</li> <li>• Haeberli Peter</li> <li>• Beigelman Leonid</li> </ul>	2005
US2010286242 (A1) — 2010-11-11	Pequenos RNAi que regulam negativamente a expressão do gene da SNCA e métodos para utilização dos pequenos RNAi.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bohn Martha</li> <li>• Sapru Mohan</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Childrens Memorial Hospital</li> </ul>	2010

## 5. Conclusão

A DP é uma doença associada ao envelhecimento pelo que com o aumento da esperança média de vida, se torna expectável que o número de casos em todo o mundo venha a aumentar. Porém, pode também atingir indivíduos mais jovens e de forma por vezes mais severa quando associada a herança genética. Assim, sendo uma doença que atualmente não tem cura, e cujos tratamentos são apenas centrados no alívio dos sintomas dos doentes e que por vezes acarretam diversos efeitos secundários, torna-se imperativo, procurar novas estratégias e terapias para tratamento desta doença.

A terapia génica é uma estratégia terapêutica atual, com enormes potencialidades de aplicação na clínica e com muito por explorar. Com os desenvolvimentos na biotecnologia e das ciências a ela associadas, a TG está a ser alvo de intensa investigação dada a sua versatilidade mostrando-se promissora para o tratamento de variadíssimas doenças, quer como terapia sintomática, quer como curativa. Porém há necessidade de continuar a investigar, nomeadamente ao nível da segurança para utilização no ser humano, dado que ensaios clínicos mal sucedidos no passado, acarretaram alguma desconfiança nesta estratégia. A DP é uma doença que sendo neurodegenerativa, na grande maioria dos casos, vai-se instalando progressivamente, tornando-se bastante limitativa para os doentes que vão perdendo a sua autonomia na realização das tarefas e dos seus hábitos de vida, o que leva a que nos estádios mais avançados da doença se tornem completamente dependentes de outras pessoas. Assim, os investigadores têm direcionado as suas pesquisas tanto para a melhoria dos sintomas, como para a neuroproteção de forma a atrasar a progressão da doença.

Com os ensaios clínicos que têm vindo a ser realizados e que têm demonstrado segurança na aplicabilidade da terapia génica, bem como com os desenvolvimentos no campo neurocirúrgico, ir-se-á assistir ao aprofundamento das terapias de modo a futuramente serem aplicadas como novos tratamentos para a DP.

## 6. Referências Bibliográficas

- ABBOTT, ALISON. - **Levodopa: the story so far**. Nature. 466:7310 (2010) 6-7. doi: 10.1038/466s6a.
- ALLEN, PATRICIA J.; FEIGIN, ANDREW. - **Gene-based Therapies in Parkinson's Disease**. Neurotherapeutics. 11:1 (2013) 60-67. doi: 10.1007/s13311-013-0233-2.
- Baba, Nakajo. [et al.] - **Aggregation of alpha-synuclein in Lewy bodies of sporadic Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies**. Am J Pathol.152:4 (1998) 879–884.
- BANKS, WILLIAM A. - **From blood–brain barrier to blood–brain interface: new opportunities for CNS drug delivery**. Nature Reviews Drug Discovery. 15:4 (2016) 275-292. doi: 10.1038/nrd.2015.21.
- BARTUS, R. T. [et al.] - **Safety/feasibility of targeting the substantia nigra with AAV2-neurturin in Parkinson patients**. Neurology. 80:18 (2013) 1698-1701. doi: 10.1212/wnl.0b013e3182904faa.
- BLANDINI, FABIO; ARMENTERO, MARIE-THERESE. - **Animal models of Parkinson's disease**. FEBS Journal. 279:7 (2012) 1156-1166. doi: 10.1111/j.1742-4658.2012.08491.x.
- BOUARD, D; ALAZARD-DANY, N; COSSET, F-L. - **Viral vectors: from virology to transgene expression**. British Journal of Pharmacology. 157:2 (2009) 153-165. doi: 10.1038/bjp.2008.349.
- BRAAK, H.; BRAAK, E. - **Pathoanatomy of Parkinson's disease**. Journal of Neurology. 247:S2 (2000) 113-1110. doi: 10.1007/pl00007758
- CHECKOWAY H, LUDIN JI, KELADA SN. - **Neurodegenerative diseases**. IARC Sci Publ. 163 (2011) 407-419.
- CHEN, YONG HONG; KEISER, MEGAN S.; DAVIDSON, BEVERLY L. - **Viral Vectors for Gene Transfer**. Current Protocols in Mouse Biology. 8:4 (2018). doi: 10.1002/cpmo.58.
- CHRISTINE, C. W. [et al.] - **Safety and tolerability of putaminal AADC gene therapy for Parkinson disease**. Neurology. 73:20 (2009) 1662-1669. doi: 10.1212/wnl.0b013e3181c29356.

CHRISTINE, CHADWICK W. [et al.] - **Magnetic resonance imaging-guided phase I trial of putaminal AADC gene therapy for Parkinson's disease.** *Annals of Neurology.* 85:5 (2019) 704-714. doi: 10.1002/ana.25450.

CLARKE, C E. - **Parkinson's disease.** *BMJ.* 335:7617 (2007) 441-445. doi:10.1136/bmj.39289.437454.ad.

CLÉMENT, NATHALIE; GRIEGER, JOSHUA C. - **Manufacturing of recombinant adeno-associated viral vectors for clinical trials.** *Molecular Therapy - Methods & Clinical Development.* 3 (2016) 1-7. doi: 10.1038/mtm.2016.2.

ClinicalTrials.gov - [Consult. 10 jun. 2019]. Disponível em <https://clinicaltrials.gov>

CONNOLLY, J B. - **Lentiviruses in gene therapy clinical research.** *Gene Therapy.* 9:24 (2002) 1730-1734. doi: 10.1038/sj.gt.3301893.

COSTANTINI, L C. [et al.] - **Gene therapy in the CNS.** *Gene Therapy.* 7:2 (2000) 93-109. doi: 10.1038/sj.gt.3301119.

DE YÑIGO-MOJADO, LAURA; MARTÍN-RUIZ, ITZIAR; SUTHERLAND, JAMES D. - **Efficient Allele-Specific Targeting of LRRK2 R1441 Mutations Mediated by RNAi.** *PLoS ONE.* 6:6 (2011). doi: 10.1371/journal.pone.0021352.

DEVERMAN, BENJAMIN E. [et al.] - **Gene therapy for neurological disorders: progress and prospects.** *Nature Reviews Drug Discovery.* 17:9 (2018) 641-659. doi: 10.1038/nrd.2018.110.

DONG, XIAOWEI. - **Current Strategies for Brain Drug Delivery.** *Theranostics.* 8:6 (2018) 1481-1493. doi: 10.7150/thno.21254.

DUVOISIN, R. - **History of parkinsonism.** *Pharmacology & Therapeutics,* 32:1(1987) 1-17.

EBERLING, J. L. [et al.] - **Results from a phase I safety trial of hAADC gene therapy for Parkinson disease.** *Neurology.* 70:21 (2008) 1980-1983. doi: 10.1212/01.wnl.0000312381.29287.ff.

EMAMZADEH, FATEMEH N.; SURGUCHOV, ANDREI. - **Parkinson's Disease: Biomarkers, Treatment, and Risk Factors.** *Frontiers in Neuroscience.* 12 (2018). doi: 10.3389/fnins.2018.00612.

EMBORG, MARINA E. [et al.] - **Subthalamic Glutamic Acid Decarboxylase Gene Therapy: Changes in Motor Function and Cortical Metabolism.** Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. 27:3 (2006) 501-509. doi: 10.1038/sj.jcbfm.9600364.

Espacenet - [Consult. 10 jun. 2019]. Disponível em <https://worldwide.espacenet.com>

FEDEROFF, H J - **Parkinson's disease gene therapy: GAD Zooks! Excitement to inhibition in one easy step?.** Gene Therapy. 10:5 (2003) 365-366. doi: 10.1038/sj.gt.3301964.

FERREIRA, J. [et al.] - **Prevalence of Parkinson's disease: a population-based study in Portugal.** European Journal of Neurology. 24:5 (2017) 748-750. doi: 10.1111/ene.13273.

GARTLAND, K. AND GARTLAND, J. - **Opportunities in biotechnology.** Journal of Biotechnology. 282 (2018) 38-45.

GELSINGER, PAUL.; SHAMOO, ADIL E. - **Eight Years after Jesse's Death, Are Human Research Subjects Any Safer?.** Hastings Center Report. 38:2 (2008) 25-27. doi: 10.1353/hcr.2008.0022.

GETZ, SARAH; LEVIN, BONNIE. - **Cognitive and Neuropsychiatric Features of Early Parkinson's Disease.** Archives of Clinical Neuropsychology. 32:7 (2017) 769-785. doi: 10.1093/arclin/acx091.

GORELL, J. M. [et al.] - **Occupational exposures to metals as risk factors for Parkinson's disease.** Neurology. 48:3 (1997) 650-658. doi: 10.1212/wnl.48.3.650.

GORELL, J. M. [et al.] - **Smoking and Parkinson's disease: A dose-response relationship.** Neurology. 52:1 (1999) 115-115. doi: 10.1212/wnl.52.1.115.

GORELL, J. M. [et al.] - **The risk of Parkinson's disease with exposure to pesticides, farming, well water, and rural living.** Neurology. 50:5 (1998) 1346-1350. doi: 10.1212/wnl.50.5.1346.

HANNON, GREGORY J. - **RNA interference.** Nature. 418:6894 (2002) 244-251. doi: 10.1038/418244a.

HEISS, JOHN D. [et al.] - **Trial of magnetic resonance-guided putaminal gene therapy for advanced Parkinson's disease.** Movement Disorders. (2019). doi: 10.1002/mds.27724.



HELMSCHRODT, CHRISTIN [et al.] - **Polyethylenimine Nanoparticle-Mediated siRNA Delivery to Reduce  $\alpha$ -Synuclein Expression in a Model of Parkinson's Disease.** *Molecular Therapy - Nucleic Acids.* 9 (2017) 57-68. doi: 10.1016/j.omtn.2017.08.013.

HERZOG, ROLAND W. - **Gene Therapy for SCID-X1: Round 2.** *Molecular Therapy.* 18:11 (2010). doi: 10.1038/mt.2010.228.

HICKEY, PATRICK; STACY, MARK - **AAV2-neurturin (CERE-120) for Parkinson's disease.** *Expert Opinion on Biological Therapy.* 13:1 (2012) 137-145. doi: 10.1517/14712598.2013.754420.

HOEHN, M. M.; YAHR, M. D. - **Parkinsonism: onset, progression, and mortality.** *Neurology.* 17:5 (1967) 427-427. doi: 10.1212/wnl.17.5.427.

HOEPKEN, HANS-HERMANN. [et al.] - **Parkinson patient fibroblasts show increased alpha-synuclein expression.** *Experimental Neurology.* 212:2 (2008) 307-313. doi: 10.1016/j.expneurol.2008.04.004.

HUBBLE, J. P. - **Long-term studies of dopamine agonists.** *Neurology.* 58:1 (2002) 42-50. doi: 10.1212/wnl.58.suppl\_1.s42.

ICHINOSE, H. [et al.] - **Quantification of mRNA of tyrosine hydroxylase and aromatic L-amino acid decarboxylase in the substantia nigra in Parkinson's disease and schizophrenia.** *Journal of Neural Transmission - Parkinsons Disease and Dementia Section.* 8:1-2 (1994) 149-158. doi: 10.1007/bf02250926.

JAGMAG, SHAIL A. [et al.] - **Evaluation of Models of Parkinson's Disease.** *Frontiers in Neuroscience.* 9 (2016). doi: 10.3389/fnins.2015.00503.

JOHNSTON, LOUISA C. [et al.] - **Clinically Relevant Effects of Convection-Enhanced Delivery of AAV2-GDNF on the Dopaminergic Nigrostriatal Pathway in Aged Rhesus Monkeys.** *Human Gene Therapy.* 20:5 (2009) 497-510. doi: 10.1089/hum.2008.137.

KALINDERI, K.; BOSTANTJOPOULOU, S.; FIDANI, L. - **The genetic background of Parkinson's disease: current progress and future prospects.** *Acta Neurologica Scandinavica.* 134:5 (2016) 314-326. doi: 10.1111/ane.12563.

KAPLITT, MICHAEL G. [et al.] - **Safety and tolerability of gene therapy with an adeno-associated virus (AAV) borne GAD gene for Parkinson's disease: an open label, phase I trial.** *The Lancet.* 369:9579 (2007) 2097-2105. doi: 10.1016/s0140-6736(07)60982-9.

KAY, MARK A.; GLORIOSO, JOSEPH C; NALDINI, LUIGI. - **Viral vectors for gene therapy: the art of turning infectious agents into vehicles of therapeutics.** Nature Medicine. 7:1 (2001) 33-40. doi: 10.1038/83324.

KHODR, CHRISTINA E. [et al.] - **Targeting alpha-synuclein with a microRNA-embedded silencing vector in the rat substantia nigra: Positive and negative effects.** Brain Research. 1550 (2014) 47-60. doi: 10.1016/j.brainres.2014.01.010.

KLEIN, C.; WESTENBERGER, A. - **Genetics of Parkinson's Disease.** Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. 2:1 (2012). doi: 10.1101/cshperspect.a008888.

KLIETZ, MARTIN. [et al.] - **Safety and Tolerability of Pharmacotherapies for Parkinson's Disease in Geriatric Patients.** Drugs & Aging. (2019). doi: 10.1007/s40266-019-00654-z.

KORDOWER, J. H. - **Neurodegeneration Prevented by Lentiviral Vector Delivery of GDNF in Primate Models of Parkinson's Disease.** Science. 290:5492 (2000) 767-773. doi: 10.1126/science.290.5492.767.

LANG, ANTHONY E. [et al.] - **Randomized controlled trial of intraputamenal glial cell line-derived neurotrophic factor infusion in Parkinson disease.** Annals of Neurology. 59:3 (2006) 459-466. doi: 10.1002/ana.20737.

LEE, DARRINJ. [et al.] - **Current surgical treatments for Parkinson's disease and potential therapeutic targets.** Neural Regeneration Research. 13:8 (2018). doi: 10.4103/1673-5374.235220.

LENTZ, THOMAS B.; GRAY, STEVEN J.; SAMULSKI, R. JUDE. - **Viral vectors for gene delivery to the central nervous system.** Neurobiology of Disease. 48:2 (2012) 179-188. doi: 10.1016/j.nbd.2011.09.014.

LESAGE, S.; BRICE, A. - **Parkinson's disease: from monogenic forms to genetic susceptibility factors.** Human Molecular Genetics. 18:1 (2009) 48-59. doi: 10.1093/hmg/ddp012.

LEWITT, PETER A. [et al.] - **AAV2-GAD gene therapy for advanced Parkinson's disease: a double-blind, sham-surgery controlled, randomised trial.** The Lancet Neurology. 10:4 (2011) 309-319. doi: 10.1016/s1474-4422(11)70039-4.

LIN, JING-YA. [et al.] - **Current Experimental Studies of Gene Therapy in Parkinson's Disease.** Frontiers in Aging Neuroscience. 9 (2017). doi: 10.3389/fnagi.2017.00126.

LIN, L. [et al.] - **GDNF: a glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons.** *Science*. 260:5111 (1993) 1130-1132. doi: 10.1126/science.8493557

LIOU, H.H. [et al.] - **Environmental risk factors and Parkinson's disease: a case-control study in Taiwan.** *Neurology*. 48 (1997) 1583-1588. doi:10.1212/wnl.48.6.1583

LIU, YUN-YUN. [et al.] - **Characterization of Polyethylene Glycol-Polyethyleneimine as a Vector for Alpha-Synuclein siRNA Delivery to PC12 Cells for Parkinson's Disease.** *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 20:1 (2013) 76-85. doi: 10.1111/cns.12176.

LOTHARIUS, JULIE; BRUNDIN, PATRIK. - **Pathogenesis of parkinson's disease: dopamine, vesicles and  $\alpha$ -synuclein.** *Nature Reviews Neuroscience*. 3:12 (2002) 932-942. doi: 10.1038/nrn983.

LUNDSTROM, KENNETH. - **Viral Vectors in Gene Therapy.** *Diseases*. 6:2 (2018). doi: 10.3390/diseases6020042.

MAJLÁTH, ZSÓFIA. [et al.] - **Promising therapeutic agents for the treatment of Parkinson's disease.** *Expert Opinion on Biological Therapy*. 16:6 (2016) 787-799. doi: 10.1517/14712598.2016.1164687.

MANFREDSSON, FREDRIC. - **Introduction to Viral Vectors and Other Delivery Methods for Gene Therapy of the Nervous System.** *Gene Therapy for Neurological Disorders*. (2016) 3-18. doi: 10.1007/978-1-4939-3271-9\_1.

MARKS, WILLIAM. [et al.] - **Gene delivery of AAV2-neurturin for Parkinson's disease: a double-blind, randomised, controlled trial.** *The Lancet Neurology*. 9:12 (2010) 1164-1172. doi: 10.1016/s1474-4422(10)70254-4.

MARKS, WILLIAM. [et al.] - **Safety and tolerability of intraputaminial delivery of CERE-120 (adeno-associated virus serotype 2-neurturin) to patients with idiopathic Parkinson's disease: an open-label, phase I trial.** *The Lancet Neurology*. 7:5 (2008) 400-408. doi: 10.1016/s1474-4422(08)70065-6.

MARRAS, C. [et al.] - **Prevalence of Parkinson's disease across North America.** *Nature Partner Journals Parkinson's Disease*. 4:1 (2018). doi: 10.1038/s41531-018-0058-0.

MASLOVA, OLGA; KOLIADA, ALEXANDER; VAISERMAN, ALEXANDER. - **Gene Therapy.** *Reference Module in Biomedical Sciences*. (2019). doi: 10.1016/b978-0-12-801238-3.11292-9.

- MASSANO, J.; BHATIA, K. P. - **Clinical Approach to Parkinson's Disease: Features, Diagnosis, and Principles of Management.** Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. 2:6 (2012) 1-15. doi: 10.1101/cshperspect.a008870.
- MERTEN, OTTO-WILHELM; HEBBEN, MATTHIAS; BOVOLENTA, CHIARA. - **Production of lentiviral vectors.** Molecular Therapy - Methods & Clinical Development. 3 (2016) 1-14. doi: 10.1038/mtm.2016.17.
- MISHRA, AKANKSHA; SINGH, SONU; SHUKLA, SHUBHA. - **Physiological and Functional Basis of Dopamine Receptors and Their Role in Neurogenesis: Possible Implication for Parkinson's disease.** Journal of Experimental Neuroscience. 12 (2018) 1-8. doi: 10.1177/1179069518779829.
- MITTERMEYER, GABRIELE. [et al.] - **Long-Term Evaluation of a Phase I Study of AADC Gene Therapy for Parkinson's Disease.** Human Gene Therapy. 23:4 (2012) 377-381. doi: 10.1089/hum.2011.220.
- MURAMATSU, SHIN-ICHI. [et al.] - **A Phase I Study of Aromatic L-Amino Acid Decarboxylase Gene Therapy for Parkinson's Disease.** Molecular Therapy. 18:9 (2010) 1731-1735. doi: 10.1038/mt.2010.135.
- NIETHAMMER, MARTIN. [et al.] - **Long-term follow-up of a randomized AAV2-GAD gene therapy trial for Parkinson's disease.** JCI Insight. 2:7 (2017). doi: 10.1172/jci.insight.90133.
- NIIDOME, T; HUANG, L. - **Gene Therapy Progress and Prospects: Nonviral vectors.** Gene Therapy. 9:24 (2002) 1647-1652. doi: 10.1038/sj.gt.3301923.
- NOVINA, CARL D.; SHARP, PHILLIP A. - **The RNAi revolution.** Nature. 430:6996 (2004) 161-164. doi: 10.1038/430161a.
- O'DONNELL, B. [et al.] - **Evoked potential changes and neuropsychological performance in Parkinson's disease.** Biological Psychology. 24:1 (1987) 23-37.
- OHMORI, TSUKASA. - **Advances in gene therapy for hemophilia: basis, current status, and future perspectives.** International Journal of Hematology. (2018). <https://doi.org/10.1007/s12185-018-2513-4>.
- OLANOW, CW, TATTON, WG. - **Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease.** Annual Review of Neuroscience. 22 (1999) 123-144. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.neuro.22.1.123>

PALFI, STÉPHANE. [et al.] - **Long-Term Follow-Up of a Phase I/II Study of ProSavin, a Lentiviral Vector Gene Therapy for Parkinson's Disease.** Human Gene Therapy Clinical Development. 29:3 (2018) 148-155. doi: 10.1089/humc.2018.081.

PALFI, STÉPHANE. [et al.] - **Long-term safety and tolerability of ProSavin, a lentiviral vector-based gene therapy for Parkinson's disease: a dose escalation, open-label, phase I/2 trial.** The Lancet. 383:9923 (2014) 1138-1146. doi: 10.1016/s0140-6736(13)61939-x.

PÉREZ-MARTÍNEZ, FRANCISCO C.; CARRIÓN, BLANCA.; CEÑA, VALENTÍN. - **The Use of Nanoparticles for Gene Therapy in the Nervous System.** Journal of Alzheimer's Disease. 31:4 (2012) 697-710. doi: 10.3233/jad-2012-120661.

POLYMEROPOULOS, M. [et al.]. - **Mapping of a Gene for Parkinson's Disease to Chromosome 4q21-q23.** Science. 274:5290 (1996) 1197-1199. doi: 10.1126/science.274.5290.1197.

RIZEK, PHILIPPE.; KUMAR, NIRAJ.; JOG, MANDAR S. - **An update on the diagnosis and treatment of Parkinson disease.** Canadian Medical Association Journal. 188:16 (2016) 1157-1165. doi: 10.1503/cmaj.151179.

ROSS, G. WEBSTER. - **Association of Coffee and Caffeine Intake With the Risk of Parkinson Disease.** JAMA. 283:20 (2000) 2674. doi: 10.1001/jama.283.20.2674.

SCHAPIRA, A. - **Present and future drug treatment for Parkinson's disease.** Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry. 76:11 (2005) 1472-1478. doi: 10.1136/jnnp.2004.035980.

SCHIEDNER, GUDRUN. [et al.] - **Genomic DNA transfer with a high-capacity adenovirus vector results in improved in vivo gene expression and decreased toxicity.** Nature Genetics. 18:2 (1998) 180-183. doi: 10.1038/ng0298-180.

SEMCHUK, K. M.; LOVE, E. J.; LEE, R. G. - **Parkinson's disease: A test of the multifactorial etiologic hypothesis.** Neurology. 43:6 (1993) 1173-1173. doi: 10.1212/wnl.43.6.1173.

Semchuk, K.M. [et al.] - **Parkinson's disease: a test of the multifactorial etiologic hypothesis.** Neurology. 43 (1993) 1173-1180

SHARFSTEIN, S. - **Biotechnology.** Reference Module in Life Sciences. (2017) doi: 10.1016/B978-0-12-809633-8.12382-9

- SINN, P L.; SAUTER, S L.; MCCRAY, P B. - **Gene Therapy Progress and Prospects: Development of improved lentiviral and retroviral vectors – design, biosafety, and production.** *Gene Therapy.* 12:14 (2005) 1089-1098. doi: 10.1038/sj.gt.3302570.
- SU, XIAOMIN. [et al.] - **Safety Evaluation of AAV2-GDNF Gene Transfer into the Dopaminergic Nigrostriatal Pathway in Aged and Parkinsonian Rhesus Monkeys.** *Human Gene Therapy.* 20:12 (2009) 1627-1640. doi: 10.1089/hum.2009.103.
- SUDHAKAR, VIVEK; RICHARDSON, R. MARK. - **Gene Therapy for Parkinson's Disease.** *Progress in Neurological Surgery.* (2018) 253-264. doi: 10.1159/000481109.
- TAYLOR, C.A. [et al.] - **Environmental, medical, and family history risk factors for Parkinson's disease: A New England-based case control study.** *American Journal of Medical Genetics.* 88:6 (1999) 742-749.
- TAYLOR, K.; COOK, J.; COUNSELL, C. - **Heterogeneity in male to female risk for Parkinson's disease.** *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry.* 78:8 (2007) 905-906. doi: 10.1136/jnnp.2006.104695.
- TYSNES, OLE-BJØRN.; STORSTEIN, ANETTE. - **Epidemiology of Parkinson's disease.** *Journal of Neural Transmission.* 124:8 (2017) 901-905. doi: 10.1007/s00702-017-1686-y.
- VON CAMPENHAUSEN, SONJA. [et al.] - **Prevalence and incidence of Parkinson's disease in Europe.** *European Neuropsychopharmacology.* 15:4 (2005) 473-490. doi: 10.1016/j.euroneuro.2005.04.007.
- WARNOCK, JAMES N.; DAIGRE, CLAIRE.; AL-RUBEAI, MOHAMED. - **Introduction to Viral Vectors.** *Methods in Molecular Biology.* (2011) 1-25. doi: 10.1007/978-1-61779-095-9\_1.
- WITT, JENNIFER.; MARKS, WILLIAM J. - **An Update on Gene Therapy in Parkinson's Disease.** *Current Neurology and Neuroscience Reports.* 11:4 (2011) 362-370. doi: 10.1007/s11910-011-0197-8.
- WOOTEN, G. - **Are men at greater risk for Parkinson's disease than women?.** *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry.* 75:4 (2004) 637-639. doi: 10.1136/jnnp.2003.020982.
- ZHARIKOV, ALEVTINA. [et al.] - **Long-term RNAi knockdown of  $\alpha$ -synuclein in the adult rat substantia nigra without neurodegeneration.** *Neurobiology of Disease.* 125: (2019) 146-153. doi: 10.1016/j.nbd.2019.01.004.