



Daniela Mariana Marques Zagalo

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “VACINAS DE RNA - Nova abordagem da Medicina Personalizada na Imunoterapia no Cancro” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, respetivamente, do Dr. Paulo André Batista Marques Carlos e da Professora Doutora Olga Maria Fernandes Borges Ribeiro e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Julho 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Daniela Mariana Marques Zagalo

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “VACINAS DE RNA - Nova abordagem da Medicina Personalizada na Imunoterapia no Cancro” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, respetivamente, do Dr. Paulo André Batista Marques Carlos e da Professora Doutora Olga Maria Fernandes Borges Ribeiro e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Julho 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Daniela Mariana Marques Zagalo, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2012118208, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do documento Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária e da Monografia intitulada “Vacinas de RNA - Nova abordagem da Medicina Personalizada na Imunoterapia no Cancro”, apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 15 de julho de 2017.

Daniela Mariana Marques Zagalo

AGRADECIMENTOS

A realização do presente Relatório de Estágio e Monografia constitui o final de uma importante etapa da minha vida pessoal e académica, pelo que venho por este meio agradecer a todos aqueles que contribuíram para que esta fosse possível.

Um sincero obrigado,

À minha tutora de monografia, Professora Doutora Olga Maria Fernandes Borges Ribeiro pelo apoio, conselhos, orientações, disponibilidade e simpatia transmitida.

A toda a Equipa Técnica da Farmácia Roldão, e em especial ao Dr. Paulo André Batista Marques Carlos, pela receptividade, auxílio durante todo o trabalho, e pelos conhecimentos transmitidos.

Aos meus pais e irmão por todo amor, dedicação e apoio incondicional em todos os momentos deste percurso.

A todos amigos por terem feito parte da minha vida académica, por todo o apoio e partilha que podemos vivenciar.

E em especial à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra pelo ensino disponibilizado e por todas as pessoas que tive o prazer de conhecer.

“O Homem é do tamanho do seu sonho”
Fernando Pessoa

ÍNDICE

75Dahl @C `=! FY'UHE]c'XY'9ghz[[c'Ya : Ufa zVU7ca i b]hxf]U	
LISTA DE ABREVIATURAS	7
NOTA INTRODUTÓRIA	8
ANÁLISE SWOT	9
1. PONTOS FORTES – STRENGTHS	9
1.1 Integração.....	9
1.2 Proximidade com a população.....	9
1.3 Gestão – a base de sucesso na FC.....	10
1.4 Sistema informático - SPharm®.....	10
1.5 Aprovisionamento, encomendas e armazenamento.....	11
1.6 Controlo de prazos de validade.....	13
1.7 Conferência de receituário e faturação.....	13
1.8 Gestão de lineares – a importância do Marketing Farmacêutico.....	14
1.9 Medicação para lares de 3ª idade – recolha, faturação e distribuição dos medicamentos... ..	15
1.10.Contacto com o público e Aconselhamento Farmacêutico – a importância de uma atitude crítica.....	15
2. PONTOS FRACOS – WEAKNESSES	17
2.1 Ações formativas.....	17
2.2 Cartão da Farmácia Roldão.....	17
2.3 Medicamentos manipulados.....	18
2.4 Serviços Farmacêuticos diferenciados.....	18
2.5 Tempo de atendimento reduzido.....	19
3. OPORTUNIDADES – OPPORTUNITIES	20
3.1 Receita eletrónica desmaterializada.....	20
3.2. Metodologia “Kaizen”.....	20
3.3 Diferenciação dos serviços da farmácia.....	21
4. AMEAÇAS – THREATS	22
4.1 Estabelecimentos de venda de MNSRM e produtos de saúde.....	22
4.2 A realidade socioeconómica atual e os medicamentos esgotados.....	22
4.3 Ceticismo associado aos medicamentos genéricos.....	23
5. CASOS CLÍNICOS	24
6. ADEQUAÇÃO DO MICF ÀS PERSPETIVAS PROFISSIONAIS FUTURAS	27
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

7 5Dahl @C &! A cbc[fUZU" J U"bUgXYFB 5 ! Bcj U'UWcfXU[Ya 'XU'A YX]M'bu'
DYfgcbU]nUXU'bU'-a i bchYfUd]U'bc '7 UbVfc"

LISTA DE ABREVIATURAS.....	31
RESUMO	33
ABSTRACT	34
ÍNDICE DE FIGURAS.....	35
ÍNDICE DE TABELAS	35
I. INTRODUÇÃO.....	36
II. O ATLAS DO GENOMA DO CANCRO.....	37
III. INSTABILIDADE GENÓMICA NO CANCRO	38
IV. IMUNO-ONCOLOGIA.....	39
V. ANTIGÉNIOS TUMORAIS RECONHECIDOS POR CÉLULAS T	41
VI. SUB-TIPAGEM DE NEO-ANTIGÉNIOS ESPECÍFICOS NO CANCRO.....	43
VII. IMUNOTERAPIA BASEADA EM mRNA.....	44
VIII. DESENVOLVIMENTO CLÍNICO	47
IX. CONCLUSÃO	56
X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

Capítulo I.

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

Farmácia Roldão

Direção Técnica Dr. Paulo André Batista Marques Carlos

LISTA DE ABREVIATURAS

BPF – Boas Práticas Farmacêuticas

CCF – Centro de Conferência de Faturas

CIMI – Centro de Informação do Medicamento e Produtos de Saúde

FC – Farmácia Comunitária

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

FR – Farmácia Roldão

MG – Medicamentos Genéricos

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

MSRM – Medicamento Sujeito a Receita Médica

PIC – Preço Impresso na Cartonagem

PVF – Preço de Venda à Farmácia

PVP – Preço de Venda ao Público

RSP – Receita Sem Papel

NOTA INTRODUTÓRIA

O presente relatório corresponde a uma análise sucinta do Estágio Curricular em Farmácia Comunitária relativo à finalização do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC). O estágio em Farmácia Comunitária (FC), ocorreu durante o período de 20 de março a 17 de junho de 2017 na Farmácia Roldão, no Concelho de Mira, sob orientação do Diretor Técnico Dr. Paulo André Batista Marques Carlos.

Através do estágio em FC, consegui compreender a realidade de uma das principais áreas de atuação do Farmacêutico e a importância do mesmo, como um profissional multifacetado. Consegui adquirir a percepção do que é realmente o mundo de trabalho e o mercado onde se insere, mas também a aplicação prática de um grande número de conceitos teóricos anteriormente adquiridos.

Durante este período tive que cumprir os diversos objetivos impostos, de uma forma bastante exigente, uma vez que todas as competências e conhecimentos são colocados à prova e, sobretudo, o nosso espírito crítico e a nossa atitude proactiva enquanto futuros profissionais de saúde.

A Farmácia constitui uma porta de entrada para o Sistema Nacional de Saúde (SNS), pelo que o farmacêutico comunitário é o único profissional que tem, muitas das vezes, o primeiro e último contacto com o doente. Isto aumenta muito a necessidade de um aconselhamento crítico, responsável, adequado e personalizado, o que faz com que a farmácia comunitária corresponda a um local de prestação de cuidados de saúde altamente prestigiado. Os serviços farmacêuticos comunitários, centralizados no doente, permitem uma melhoria substancial da qualidade de vida da população. Assim, o Farmacêutico como especialista do medicamento e agente de saúde pública, na prevenção da doença e promoção da saúde, desempenha um papel gratificante e extremamente versátil.

Com isto, a realização do estágio na FR, permitiu-me adquirir inúmeras competências e capacidades fulcrais para que futuramente possa ser um profissional de saúde de excelência, com uma correta intervenção nas diferentes áreas de atuação do setor farmacêutico.

ANÁLISE SWOT

A análise SWOT corresponde a uma ferramenta de gestão e planeamento estratégico e subdivide-se em duas análises complementares entre si: análise interna (pontos fortes e pontos fracos) e externa (oportunidades e ameaças), com a identificação de quatro pontos conhecidos pela sigla “SWOT” – *Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats*. Esta análise é importante na medida em que permite estabelecer prioridades de atuação, opções estratégicas, riscos a ter em conta e vantagens e oportunidades a potenciar e explorar.

No presente relatório desenvolvo uma abordagem diferente de análise SWOT decorrente da experiência obtida no Estágio Curricular na FR, adequada à realidade da Farmácia e ao meio socioeconómico onde esta se insere.

I. PONTOS FORTES – STRENGHTS

I.1 Integração

Apesar das expectativas e nervosismo sentidos no início, a integração, hospitalidade e recetividade sentidas por parte da equipa técnica foi um dos pontos mais positivos deste estágio. O Diretor Técnico, a Dra. Ana Miguel, mas também os restantes membros da equipa técnica auxiliaram-me e explicaram-me cada pormenor desde a primeira semana de estágio, pelo que me senti bastante integrada.

Foram-me dadas várias responsabilidades ao longo deste período e prepararam-me para lidar e conhecer todos os assuntos relativos às atividades de gestão e receção de encomendas, definição de preços, regularização de devoluções, conferência de receituário, preparação da medicação para o Lar de Idosos do Concelho ou Unidade de Cuidados Continuados, atendimento ao público, entre outros.

I.2 Proximidade com a população

A população fidelizada à FR é na sua maioria residentes do Concelho, sobretudo população geriátrica, pelo que a FC é um local de eleição primordial na resolução de problemas de saúde.

Como as consultas médicas têm um tempo relativamente curto, e a informação transmitida é muitas das vezes incompleta, torna-se fundamental o esclarecimento na FC sobre para que fim são os medicamentos e como devem tomá-los.

Alguns dos utentes têm também receio de fazer perguntas, retirar dúvidas ou não conseguem compreender ou ler a receita médica, ocorrendo com maior frequência quando são substituídos alguns medicamentos ou quando são introduzidos medicamentos novos na terapêutica.

Nestes meios em que a percentagem de idosos e de população com baixo grau escolaridade é grande, a confiança depositada e a receptividade do aconselhamento e das indicações dadas pelo farmacêutico é facilmente aceite. Isto pode ser uma vantagem na introdução de futuros serviços farmacêuticos mais focados no doente. Posso definir ainda, que esta relação de confiança e proximidade dos utentes com a equipa técnica facilita o aconselhamento farmacêutico, para que seja o mais adequado e correto possível, com toda a responsabilidade inerente.

1.3 Gestão – a base de sucesso na FC

A FC vai muito para além do atendimento e do ato de venda que é visível e percecionado pelo público. A atividade de gestão é cada vez mais importante no presente e no futuro desta área, sobretudo devido à crise económica, tendo como principais objetivos a organização, a diferenciação e, claro, a viabilidade económica. Com a evolução constante, é fundamental uma adaptação eficaz da FC ao mercado atual e às populações alvo, uma vez que as necessidades, exigências e gostos alteram-se constantemente. Isto só é possível se existir uma atualização e formação constante onde se dá cada vez maior valor às competências de gestão, *marketing* e *merchandising*, uma vez que estas têm repercussões diretas ao nível da capacidade de resposta às necessidades do público.

1.4 Sistema informático - SPharm®

A informática, como ferramenta de gestão, facilita muito a realidade das farmácias, otimizando tempo e recursos e permitindo uma maior efetividade nas diversas atividades diárias. A FR encontra-se equipada com o *software* SPharm®, sendo fundamental no funcionamento da farmácia. As funcionalidades deste programa informático são inúmeras, como é o caso da informação científica disponibilizada que serve de apoio ao farmacêutico quando este precisa de mais informações (resumo de características do medicamento e dados sobre a classificação A.T.C (*Anatomical Therapeutic Chemical Code*), da Organização Mundial de Saúde, em que os fármacos estão divididos segundo o órgão ou sistema em que atuam e as suas propriedades químicas, farmacológicas e terapêuticas).

Ainda no atendimento, outra vantagem importante no aumento da segurança na dispensa de medicamentos, é o alerta para interações medicamentosas graves e quando o produto a ser dispensado não corresponde ao que se encontra na receita médica.

Por outro lado, este *software* é a base do “*Back Office*”. Permite o pedido e a receção de encomendas, facilita o controlo dos prazos de validade, de histórico de vendas e compras e de todas as informações relativas a alterações dos preços dos medicamentos. Auxilia a tarefa de definição de preços e de margens, bem como a avaliação de condições e PVF's. O controlo de *stocks* e de prazos de validade, uma vez inseridos aquando da receção dos produtos, são uma boa ferramenta na gestão de existências. Cada produto existente na farmácia possui uma ficha no sistema, a qual detém informação sobre o mesmo: nome do produto, código (CNP – Código Interno do Produto), tipo de produto, forma farmacêutica, principal fornecedor, fabricante, *stocks* mínimo e máximo, histórico de vendas e de compras, entre outros. Outras atividades em que o SPharma[®] se torna imprescindível, são o controlo de entradas e saídas de psicotrópicos e benzodiazepinas, gestão e regularização de devoluções, regularização de faturação, organização e a gestão de receituário.

O sistema também permite recolher informação completa sobre o utente, associar um cartão e, por exemplo, criar uma conta corrente para o mesmo. A criação de fichas pode beneficiar também quando existe um serviço de acompanhamento farmacoterapêutico, podendo ser registada toda a informação sobre o historial clínico e medicamentoso. Por exemplo, quando o utente traz uma receita com medicamentos já anteriormente instituídos em terapêutica continuada, é importante ver o laboratório e o tipo de medicamento que normalmente utiliza.

1.5 Aprovisionamento, encomendas e armazenamento

Uma das principais tarefas realizadas diariamente é a encomenda de medicamentos e outros produtos de saúde, a sua receção e o armazenamento. Este ponto é fulcral na garantia da melhor prestação de serviços à comunidade, visto que tem de se responder prontamente às solicitações dos utentes. Recebem-se, diariamente, quatro encomendas, duas de cada fornecedor (Proquifa e Plural), para a manutenção de *stocks* mínimos definidos. A maior parte dos produtos é adquirida através do sistema SPharm[®], o qual deteta a venda de produtos e a consequente ausência de um *stock* mínimo necessário para o correto funcionamento da farmácia.

À parte destas encomendas feitas de forma instantânea e diretamente aos fornecedores por via eletrónica, existem produtos solicitados via telefone.

Para além destas encomendas diárias relacionadas com os medicamentos que têm stocks já definidos, realizam-se outras encomendas de produtos através de delegados de informação médica, principalmente para produtos de venda livre ao público. No entanto, o mesmo acontece para as encomendas mensais dos laboratórios de medicamentos genéricos com maior percentagem de vendas na farmácia. Este tipo de encomendas realizadas por intermédio dos delegados permite uma negociação de melhores condições de compra, como melhores preços de venda à farmácia (PVF's), bonificações, amostras, promoções, elaboração de montras, ações de formação sobre os produtos na própria farmácia e recolha de produtos fora da validade.

Na receção dos produtos lidos através de leitura ótica é fundamental analisar o nome do produto, o prazo de validade, o estado da embalagem, preço impresso na cartonagem (PIC) quando aplicável, o código, a quantidade recebida, e proceder à correção dos PVF e inserir as condições de compra (como por exemplo descontos).

O armazenamento dos produtos recebidos é o passo seguinte e é feito de acordo com as Boas Práticas Farmacêuticas em Farmácia Comunitária (BPF), e tendo sempre em conta a regra "*First In, First Out*". Neste ponto é fundamental a organização, seja nos armários onde se armazenam os medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) como na zona exterior onde se colocam os medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) e os produtos de saúde com livre acesso. Com uma boa organização a este nível é possível uma otimização do tempo de procura dos medicamentos e produtos e, como consequência, responde-se mais rapidamente às necessidades dos utentes, tornando o atendimento mais rápido e mais recetivo para um maior número de pessoas. Na FR a organização é feita de acordo com a apresentação farmacêutica e ordem alfabética. Na receção e armazenamento existem alguns produtos sujeitos à aplicação de condições especiais, como é o caso dos Psicotrópicos e Estupefacientes e os produtos que têm condições especiais de armazenamento. Os primeiros necessitam de documentação adicional de aquisição e têm um local específico para serem armazenados, à parte dos demais medicamentos. Os produtos termolábeis encontram-se armazenados no frigorífico, entre os 2 e os 8°C, sendo necessário analisar periodicamente o registo informático da temperatura do mesmo, tal como da temperatura ambiente da própria farmácia onde estão armazenados os restantes medicamentos e produtos.

1.6 Controlo de prazos de validade

Na aquisição e venda de medicamentos e produtos de saúde é necessário que os produtos com prazo de validade mais curto sejam os primeiros a serem vendidos (regra “*First In, First Out*”). Este princípio é bastante importante na gestão de existências dentro da farmácia, visto que um produto que expire em três meses tem de ser colocado à parte e não pode ser vendido. O *SPharm*[®], através do Documento de Validades, facilita o processo de controlo uma vez que estão inseridos os prazos de validade dos produtos e respetivas quantidades, possibilitando a obtenção de uma lista com os medicamentos e outros produtos já expirados e uma lista com os que vão perder a validade brevemente. Assim, é mais fácil identificar estes produtos e vendê-los em primeiro lugar, minimizando as perdas económicas para a Farmácia. Isto tem como principal objetivo a devolução do produto ao laboratório com vista a se proceder à troca por produtos dentro da validade ou a uma melhor condição de compra numa próxima encomenda, o que nem sempre é possível.

1.7 Conferência de receituário e faturação

A conferência e faturação de receituário ao nível da farmácia constitui uma tarefa de extrema importância, de modo a garantir que as receitas médicas foram aviadas sem erros e com toda a segurança para o doente. É também importante para garantir que a farmácia recebe o reembolso total da participação feita pelo estado dos medicamentos dispensados. A conferência das receitas médicas aviadas é facilitada se no ato da dispensa estivermos atentos a todos os pormenores que têm de estar preenchidos pelo médico, como é o caso da data de prescrição, vinhetas do médico e do local de prescrição, assinatura do médico, número de beneficiário e organismo.

Pude observar a organização e conferência manual de receitas separadas de acordo com o organismo e em lotes de 30 receitas, ou menos se não se completar esse número. Confere-se cada ponto da receita juntamente com a verificação da assinatura do farmacêutico, data da dispensa e presença de carimbo da farmácia. Cada lote com a devida documentação é, por sua vez, fechado e enviado posteriormente para o CCF até ao dia 5 do mês seguinte no caso do Sistema Nacional de Saúde (SNS), e até ao dia 10 do mês seguinte para outros organismos.

Ao ter a oportunidade de acompanhar durante o estágio esta atividade, permitiu-me um maior contacto com os diferentes organismos existentes e com os detalhes de cada receita médica que, em falta, a impedem de ser aviada.

Por outro lado, consciencializou-me mais sobre os tipos de erros que podem ocorrer durante a dispensa de medicamentos, como a dispensa de formas farmacêuticas diferentes, dosagens incorretas, embalagem diferente da que foi prescrita, número de embalagens diferente, entre outros. No entanto, este tipo de erros ocorre, atualmente, nas receitas médicas manuais, visto que nas eletrónicas e próprio sistema informático alerta caso se esteja prestes a dispensar um medicamento errado, bem como em casos de receitas médicas fora de prazo. Com isto, também podemos enaltecer a importância da utilização de receitas eletrónicas.

1.8 Gestão de lineares – a importância do Marketing Farmacêutico

O tempo médio despendido numa visita farmácia é normalmente 7 minutos, pelo que o tempo médio de escolha de um produto se estiver ao alcance do consumidor é de apenas 15 segundos. Assim torna-se fundamental uma organização correta do espaço e aplicação de técnicas adequadas de *merchandising*. Segundo Phillip Kotler, o *merchandising* corresponde ao conjunto de operações efetuadas no ponto de venda, visando colocar o produto certo, na quantidade certa, com o preço certo, no tempo certo, com impacto visual adequado e exposição correta. Pode dizer-se que é a união de todos os esforços possíveis destinados a valorizar os produtos aos olhos do consumidor, cujo principal objetivo é estimular a venda no próprio local de exposição. As principais vantagens para a farmácia correspondem: vender mais e melhor, aumentar o número de clientes, apresentar os produtos de forma apelativa, reforçar a imagem, a promoção e a identidade da Farmácia e reduzir custos. Deve ser feita a organização tendo em conta as zonas quentes e zonas frias, as cores utilizadas, a fachada e a montra, o balcão de atendimento com renovação constante e produtos de novidade ou de compra por impulso, e a organização de acordo com as diferentes categorias (OmegaPharma, 2017).

Ao longo do estágio tive a possibilidade de ajudar a reorganizar o espaço exterior de venda da FR, melhorando a exposição dos lineares consoante a área e tipo de produtos – Puericultura, Veterinária, Dermocosmética, Perfumaria, Podologia, Nutrição e Dentária.

Esta foi uma experiência bastante interessante porque pude aplicar conceitos de Marketing Farmacêutico referente à exposição de produtos, à sua organização no exterior e tendo em conta o segmento de mercado da farmácia.

1.9 Medicação para lares de 3ª idade – recolha, faturação e distribuição dos medicamentos

No presente estágio também pude verificar a gestão de todos os procedimentos inerentes à distribuição da medicação para o lar de 3ª idade do Concelho de Mira e para o Centro de Cuidados Continuados. Todas as semanas a FR recebe os pedidos e receitas médicas de cada instituição e procede ao envio da medicação solicitada. Para facilitar, a FR criou uma ficha para cada utente, o que possibilita um maior controlo Farmacoterapêutico.

1.10. Contacto com o público e Aconselhamento farmacêutico – a importância de uma atitude crítica

O farmacêutico tem o privilégio de entrar em contacto com o doente no seu percurso médico ou, muitas das vezes, é também o primeiro que o encaminha para o mesmo. A principal vertente de atuação do farmacêutico comunitário é, sem dúvida, o aconselhamento ao doente, tanto a nível dos MSRM como nos MNSRM e outros produtos de saúde. Assim, é necessária uma capacidade de análise crítica e proactiva para o aconselhamento ser feito da melhor forma, sendo o farmacêutico o principal responsável para um uso correto do medicamento. Mesmo quando há uma prescrição médica existe uma obrigação em prestarmos todas as informações que o doente necessita de saber para o tomar de forma correta e responsável. A comunicação é a base desta relação entre farmacêutico e o utente, e é nesta capacidade comunicativa que se tem a possibilidade em chegar às pessoas e de as instruir, promovendo a saúde e a adesão à terapêutica. É então necessário adaptar o aconselhamento e a comunicação ao utente, nomeadamente o tipo de linguagem, postura e termos utilizados, de acordo com as suas características e a sua literacia em saúde. O farmacêutico deve comunicar, verbal e fisicamente, de forma clara e objetiva e promover, sempre, um uso racional dos medicamentos.

Durante o meu estágio, pude constatar várias vezes que existe uma grande falta de comunicação entre o médico e o doente e lacunas na informação dada relativa aos medicamentos prescritos. Portanto, é fundamental o farmacêutico adotar uma atitude de recetividade para o esclarecimento de todas as dúvidas relativas à utilização e toma dos mesmos. Outro ponto importante quanto aos MSRM é a questão dos medicamentos genéricos, sendo função do farmacêutico o esclarecimento e a eliminação de qualquer receio na segurança de utilização.

A automedicação e o recurso a MNSRM e outros produtos de saúde, como os das áreas de Dermocosmética, Puericultura, Suplementação, entre outros, são constantes no dia-a-dia do farmacêutico e facilitam o tratamento de situações clínicas menos graves e passíveis de serem resolvidas na farmácia, sempre sob aconselhamento de um profissional de saúde. A existência destes produtos e a possibilidade de poderem ser indicados livremente pelo farmacêutico beneficiam o utente no sentido de aliviar um problema de saúde passageiro e pouco grave sem este ter de recorrer ao sistema de saúde, sendo também uma forma de diminuir a sobrecarga do mesmo. O recurso a este tipo de produtos numa farmácia tem vantagens relativamente a outros espaços de saúde. Justifico esta afirmação, principalmente, pela disponibilidade de um aconselhamento farmacêutico, informado e personalizado, o qual não está disponível em muitos locais onde a presença de farmacêuticos não é obrigatória.

É de notar que a automedicação pode mascarar sintomas e mesmo dificultar diagnósticos, portanto, estas situações não devem ser prolongadas e o utente deve ser alertado para que, caso não sinta melhoras num tempo útil, se dirigir ao médico de modo a despistar uma situação de saúde mais grave. É importante também demonstrar as vantagens de recorrer em primeiro lugar a medidas não farmacológicas e, só depois, recorrer a medicação.

Ao longo do estágio, os principais motivos que levaram os utentes a se dirigirem à farmácia para resolverem problemas de saúde menores prenderam-se a questões dermatológicas e do sistema digestivo, como o caso de situações de diarreia, obstipação, problemas gástricos, entre outros. Foi também frequente a procura de vitaminas com o objetivo de sentirem uma maior vitalidade e combaterem a fadiga psicológica e física. A publicidade e anteriores contactos positivos com os produtos têm grande influência na decisão de compra. Fui-me deparando com várias situações diferentes onde a intervenção farmacêutica, através de medidas não farmacológicas ou de MNSRM, era eficaz e ia de encontro às necessidades e problemas dos utentes.

2. PONTOS FRACOS – WEAKNESSES

Embora a maior parte das experiências vivenciadas no estágio sejam positivas, é importante analisar alguns pontos limitadores da aprendizagem e desenvolvimento farmacêutico.

2.1 Ações formativas

Para que o aconselhamento ao utente seja o mais personalizado possível é importante que o farmacêutico apresente conhecimentos detalhados, atualizados e fundamentados sobre as doenças ou problemas de saúde, medicamentos ou apresentações novas, ou outros produtos introduzidos no mercado. Para desempenhar as suas funções conscientemente, tem que melhorar e aperfeiçoar constantemente o seu exercício, através da atualização das suas capacidades técnicas e científicas.

Obtive algumas formações na farmácia através dos delegados de informação médica. A não participação em ações formativas decorre sobretudo da Farmácia estar localizada num meio rural, pelo que é bastante importante o esforço do Farmacêutico em colmatar estas falhas de formação através do estudo dos catálogos, panfletos ou nas plataformas online disponibilizadas.

2.2 Cartão da Farmácia Roldão

Apesar do Cartão da FR promover a prestação de um serviço de maior proximidade e disponibilidade, oferecendo vários benefícios e vantagens aos utentes que promovem a sua fidelização, este trouxe-me algumas complicações diariamente. Como no início não conseguia conhecer todos os utentes fidelizados que vinham normalmente à farmácia, tinha que perguntar se tinham ficha de cliente, e por conseguinte, o cartão da FR. Muitas das pessoas, sobretudo idosos, não me sabiam responder se tinham ficha de cliente para acumulação de pontos, pelo que dificultava o meu atendimento e tempo despendido na tentativa de perceber essa situação. Realço ainda que este cartão tem impacto económico para a farmácia que, muitas vezes, não é favorável.

Outra da situação que normalmente presenciava era entregarem-me o cartão das Farmácias Portuguesas - Cartão Saúde - para a qual a FR não tinha acordo.

2.3 Medicamentos manipulados

Segundo a Portaria nº 594/2004 de 2 de Junho, um medicamento manipulado define-se como “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico”. A importância desta atividade decorre da necessidade de personalizar produtos farmacêuticos medicamentosos para determinados doentes ou patologias, e envolve conhecimentos laboratoriais galénicos e tecnológicos, farmacológicos e dermofarmacêuticos.

Para salvaguardar a saúde pública na utilização destes medicamentos, é necessário garantir a qualidade, segurança e eficácia, através do cumprimento da legislação e regulamentação.

Assim, é necessário ter em conta o cumprimento de todas as normas relativas à prescrição, fabrico, preparação, substâncias permitidas e/ou proibidas, aos requisitos relativos aos fornecedores de matérias-primas, ao material obrigatório em farmácia de oficina, ao regime de preços e comparticipações de manipulados, de modo a conferir e garantir a credibilidade, a segurança e a manutenção do seu reconhecimento terapêutico, a par das especialidades farmacêuticas.

Na FR apenas tive a possibilidade de reconstituir preparações extemporâneas, nomeadamente soluções orais de antibióticos. Sempre que é solicitado algum medicamento manipulado é feita uma encomenda a outra farmácia do mesmo grupo, uma vez que as condições de espaço existente não são suficientes nem adequadas. Neste processo garante-se o cumprimento da legislação, e das Boas Práticas de Produção e Transporte. A não preparação de Medicamentos Manipulados na FR não prejudicou a minha formação nesta área, uma vez que no Programa SEP Budapeste e em Farmácia Hospitalar no Programa Erasmus + em Espanha, tive a oportunidade de preparar todos os dias estas formulações.

2.4 Serviços Farmacêuticos diferenciados

A realização de serviços diferenciados, como Revisão da Medicação ou Acompanhamento Farmacoterapêutico, seria ideal sobretudo em doentes polimedicados ou com complexos regimes farmacoterapêuticos, uma vez que permitiria um melhor conhecimento sobre o medicamento por parte do doente, e conseqüentemente, uma melhor adesão à terapêutica. Este passaria a ser uma parte integrante e de controlo na sua própria terapêutica e na melhoria da sua saúde.

Na prestação destes serviços o farmacêutico, enquanto especialista do medicamento, é capaz de avaliar interações medicamentosas, casos de duplicação da terapêutica e de medicação desnecessária, promover e maximizar a adesão à terapêutica, contactar o médico na resolução de questões relevantes que comprometam a saúde do utente, e principalmente explicar a função e objetivo da toma de cada fármaco em particular. Na FR não se realizam este tipo de serviços em regime de consulta isolada com os utentes, sendo que algumas destas questões são referenciadas no momento da venda. O meu estágio poderia ser mais completo, se a FR apresentasse vários serviços diferenciados, na qual poderia participar e intervir. Em contrapartida, pude realizar os serviços de medição de parâmetros bioquímicos (glicémia, colesterol/triglicéridos, tensão arterial, peso e altura), mas a FR tinha também a possibilidade de realizar a administração de vacinas e injetáveis, e consultas de nutrição dadas por uma Nutricionista.

2.5 Tempo de atendimento reduzido

Apesar de na FC existir uma preocupação crescente na disponibilização de um atendimento correto e adequado, este é muitas vezes condicionado por diversos fatores, como a grande afluência de utentes à farmácia e a recetividade e disponibilidade dos mesmos em responder a questões do Farmacêutico. Presenciei algumas situações que dificultaram o meu atendimento, como casos de pessoas que não queriam perder tempo na farmácia ou confiavam apenas na opinião médica, não estando dispostos ao aconselhamento farmacêutico, e outras situações, que o número de utentes era tão elevado que na minha opinião não era suficiente o tempo dispensado a cada um individualmente.

I. OPORTUNIDADES – OPPORTUNITIES

Para além dos pontos fortes realço também alguns aspetos que têm, na minha opinião, um impacto positivo na realidade da própria farmácia e no futuro do farmacêutico, os quais contribuirão para um enriquecimento da minha experiência como estagiária.

3.1 Receita eletrónica desmaterializada

A Receita Sem Papel (RSP) ou Desmaterializada, segundo o Despacho n.º 2935-B/2016 de 25 de Fevereiro do Diário da República, passou a ser de carácter obrigatório para todas as entidades do Serviço Nacional de Saúde (SNS) no dia 1 de Abril de 2016.

Este modelo eletrónico permite a prescrição e dispensa com maior autenticidade, segurança e fiabilidade, contribuindo eficazmente no combate à fraude e promovendo a implementação no SNS de práticas ambientalmente sustentáveis. Permite a existência de um único receituário, com diferentes tipos de medicamentos em simultâneo (comparticipados e não participados). Além disso, este tipo de receita apresenta outras vantagens associadas como: uniformização do sistema a partir do uso do Cartão Único; minimização de erros de prescrição e aviamento; o utente pode optar por aviar todos os produtos prescritos ou apenas parte deles, sendo possível levantar os restantes posteriormente e noutra farmácia, caso necessitem; prática de saúde mais sustentável sem o uso de papel e tinteiros; minimização da complexidade das tarefas de conferência de receituário.

Alguns dos utentes achavam as RSP um método mais complicado, principalmente utentes idosos que não estão tão recetivos a mudanças nem às novas tecnologias. Esta opinião ocorria sobretudo porque os utentes levavam apenas alguns medicamentos, por dificuldades económicas ou outras razões, o que fazia com que ficassem confusos e desorganizados relativamente à adesão à terapêutica. Outros utentes deixavam passar o prazo de validade da receita eletrónica pelo que quando chegavam à farmácia com a receita caducada, tínhamos que direcioná-los a irem novamente ao médico pedir nova receita.

3.2. Metodologia “Kaizen”

A metodologia “kaizen” corresponde a um método de melhoria contínua aplicado a empresas, que apresenta três objetivos principais: o crescimento das vendas, o aumento da rentabilidade e a racionalização de investimentos, conferindo vantagem competitiva à mesma.

Este já foi aplicado em várias Farmácias maximizando a eficiência de custos e dos processos e gerando valor, sendo o sucesso não feito apenas pelos resultados financeiros tangíveis mas também sobre o desenvolvimento de pessoas capazes de os sustentar (Kaizen Institute, 2017).

Durante o período de estágio fui conhecendo melhor esta área, obtive opiniões de outros colegas que estagiaram em FC com esta metodologia e aprendi um pouco acerca dos seus fundamentos e objetivos, como nova oportunidade de implementação na FR.

3.3 Diferenciação dos serviços da farmácia

Durante o estágio tive a oportunidade de participar e observar alguns serviços na FR, o que diversificou ainda mais o leque de atividades desenvolvidas.

Destaco a medição de parâmetros bioquímicos como a glicemia, colesterol total, triglicerídeos e pressão arterial, bem como consultas de nutrição, reabilitação auditiva e administração de vacinas e injetáveis. Os valores dos parâmetros bioquímicos obtidos em cada medicação são registados num cartão, sendo mais fácil fazer uma monitorização do estado de saúde do utente, e constitui um registo fundamental para o médico tomar posteriormente decisões ao nível da terapêutica.

Os serviços farmacêuticos de Acompanhamento Farmacoterapêutico, Revisão da Terapêutica, Pedologia, Serviço de Dermofarmácia e Cosmética, Serviço do Pé Diabético, Rastreio de Saúde Capilar, Consulta do Viajante, Consulta de Puericultura, e outros serviços que possam enriquecer a Farmácia e os cuidados à população, devem ser tidos em conta e adaptados ao público-alvo onde esta se insere, uma vez que têm vantagens significativas para ambas as partes. Com estes serviços a Farmácia torna-se mais inovadora e adaptada às necessidades da população, maximizando o contato com o utente e fidelizando-o. No entanto, é necessário compreender que na FR existe alguma dificuldade na introdução destes serviços pela falta de espaço e condições para realização das consultas.

2. AMEAÇAS – THREATS

Ao longo do estágio deparei-me com alguns pontos menos positivos e que considero barreiras à realidade das farmácias comunitárias e da profissão farmacêutica, exigindo dos farmacêuticos a capacidade de gerir essas situações.

4.1 Estabelecimentos de venda de MNSRM e produtos de saúde

Atualmente existem diversos estabelecimentos de venda de MNSRM, produtos de Dermofarmácia e Cosmética, Ortopedia, Podologia, Ortodôntica, Puericultura, Perfumaria, Produtos óticos, de emagrecimento, entre outros. Estes estabelecimentos concorrentes correspondem a ameaças económicas diretas para as Farmácias e descredibilizam o papel e a responsabilidade socioprofissional do farmacêutico como interveniente direto na saúde das populações, e na indicação e utilização correta dos medicamentos. Esta autorização de venda tem consequências nefastas para os utentes devido a automedicação incorreta e irresponsável, reações adversas não identificadas, interações medicamentosas, e na minha opinião contribui para uma sociedade mais descuidada e ignorante ao nível da saúde.

4.2 A realidade socioeconómica atual e os medicamentos esgotados

Ao longo dos últimos anos, a realidade socioeconómica do nosso país tem-se alterado, com consequências diretas na FC e na Indústria Farmacêutica, nomeadamente na redução do preço dos medicamentos, das margens dos distribuidores e das farmácias e atrasos de pagamentos, resultando na eliminação de grandes *stocks*. Consequentemente, a existência e a facilidade de rutura dos mesmos é muito maior (Silveira, J., 2012).

A Exportação Paralela, com a venda dos medicamentos para países onde são mais caros, traz vantagens significativas para as empresas que ganham margens de lucro muito superiores, mas pode ser responsável pela situação insustentável dos medicamentos esgotados ou das restrições à sua distribuição. Os laboratórios detentores de AIM não pretendem que os medicamentos produzidos no país sejam exportados para outros países, condicionando e restringindo a entrega destes medicamentos aos distribuidores grossistas que exportam. Consequentemente causam perturbações drásticas na cadeia dos medicamentos, e na sua aquisição dos mesmos pelas Farmácias (Plural, 2011).

Na minha opinião, isto constitui um problema de Saúde Pública dado que o acesso aos medicamentos fica fortemente condicionado, o que pode pôr em causa as terapêuticas

instituídas e agravar alguns problemas de saúde e a qualidade de vida dos utentes. Por outro lado, pode evidentemente prejudicar a própria Farmácia uma vez que os utentes ficam descontentes e frustrados pelo medicamento estar esgotado, não percebendo o porquê de isso acontecer.

O Farmacêutico tem que fazer um esforço para lidar com este problema diariamente de modo a conseguir dar continuidade aos tratamentos dos doentes. Os utentes também podem ser informados sobre a possibilidade de consultarem os medicamentos esgotados por contacto telefónico ou *online* no Centro de Informação do Medicamento e Produtos de Saúde (CIMI) desenvolvido pelo Infarmed. Assim, para cumprir a lei e o cidadão não tenha dificuldades na obtenção da medicação prescrita, é fundamental que os intervenientes na cadeia do medicamento, sem exceção, sejam informados destas restrições voluntárias sempre que existam.

4.3 Ceticismo associado aos medicamentos genéricos

A maioria da população compra medicamentos genéricos devido ao preço reduzido e maior participação por parte do Estado, não percebendo porque são equivalentes aos medicamentos de marca e que têm a mesma eficácia terapêutica. Ao desconhecer a realidade dos MG não existe confiança no seu uso seguro, nem que podem ser alternativas na terapêutica instituída, descredibilizando a ideia que o utente tem da FC e dos próprios medicamentos.

A desconfiança que surge pela falta de esclarecimento pode ser colmatada ao explicar o fundamento dos MG e como eles entram no mercado, promovendo um aumento da confiança na sua utilização.

Outra das situações que ocorria diariamente era a desconfiança dos utentes relativa ao preço dos medicamentos, sobretudo nas receitas eletrónicas onde aparece o preço mais baixo do genérico no mercado, devido à frase “Esta prescrição custa-lhe, no máximo €, a não ser que opte por um medicamento mais caro”.

3. CASOS CLÍNICOS

Ao longo do meu estágio tive contacto com inúmeras situações clínicas diferentes e pude constatar que o farmacêutico é um profissional de confiança para a população e que os utentes sabem que podem recorrer à farmácia para resolver problemas de saúde passíveis de automedicação, bem como para se esclarecerem relativamente à sua medicação. Nestes casos, o farmacêutico tem de ter um papel responsável e saber aconselhar no sentido do uso racional dos medicamentos e na fomentação do recurso a medidas não farmacológicas sempre que possível, bem como utilizar os seus conhecimentos para satisfazer todas as necessidades dos utentes, tanto a nível dos MSRM como de MNSRM e outros produtos de saúde. De seguida apresento quatro casos que estiveram presentes no meu estágio na FR e que me despertaram maior interesse.

Caso I- O cuidado do aconselhamento na gravidez

Num dos dias em que estava a fazer atendimento ao público, chegou uma senhora grávida que necessitava de um antialérgico, uma vez que tinha uma alergia na zona do tórax provavelmente desenvolvida pela toma de um multivitamínico, que iniciou dias antes. Disse que o seu médico (no estrangeiro) lhe tinha indicado o Benaderma (Difenidramina (10 mg/g); Calamina (80 mg/g); Cânfora (1 mg/g)).

Como o Benaderma está contraindicado na gravidez, aconselhou-se apenas a interrupção do multivitamínico e aplicação do gel ADN Pruriskin (calamina, glicerina, óleo de alcaçuz, óleo de jojoba, extrato de aveia, manteiga de karité, manteiga de cacau e vitamina E) ou de água termal, e direcionou-se a senhora para o Centro de Saúde caso não apresentasse uma melhoria significativa. Com o intuito de perceber aquilo que se pode indicar como antialérgico na gravidez, percebi que é de extrema importância a avaliação médica dos benefícios em relação aos riscos na toma de alguns fármacos (como a doxilamina ou a loratadina) uma vez que têm estudos reduzidos e resultados inexistentes em relação à utilização durante a gestação. Assim, se esta situação se resolvesse com a interrupção do multivitamínico e da aplicação de um creme apaziguante adequado à gravidez, o médico não necessitaria de indicar um antialérgico mas apenas indicar outro multivitamínico caso a senhora realmente necessitasse.

Caso 2 - Intervenção Farmacêutica na Contraceção de Emergência

Num dos dias em que estava a fazer atendimento ao público, uma senhora dirigiu-se a mim abordando-me acerca da Contraceção de Emergência (CE), solicitando a Pílula do Dia Seguinte. A intervenção baseou-se sobretudo em saber se era adequado o recurso à CE. Em primeiro lugar, questionei-a se de facto, houve uma relação sexual desprotegida e há quanto tempo, visto que a CE através da pílula do dia seguinte deve ser feita até às 72h após da relação sexual desprotegida ou inadequadamente desprotegida. A senhora não tinha problemas de saúde que impedissem a toma de CE, como acontece com casos de infeção nas trompas de Falópio (Salpingite), doença hepática grave, doença digestiva e de má absorção, doença de Crohn, e história familiar ou pessoal de tromboembolismo venoso ou arterial. Como me transmitiu que teria risco em engravidar, referindo que não tomava contraceptivos orais, procedi à dispensa do medicamento *Norlevo*[®]. Este medicamento (dois comprimidos) contém 0.75 mg de levonorgestrel, é de toma única e não é sujeito a receita médica. Alertei para que caso vomitasse ou tivesse diarreia até 3 horas após a toma do medicamento devia repetir a toma. A senhora questionou-me acerca de possíveis efeitos secundários. Referi que podiam existir perturbações menstruais e sintomas gastrointestinais como náuseas, dores abdominais, bem como cefaleias. Aconselhei também para tomar o medicamento o mais rapidamente possível e para adotar métodos de contraceção de barreira (preservativo, espermicida ou diafragma) durante o restante ciclo menstrual.

Caso 3 - Importância da Comunicação em Saúde

Num dos dias de atendimento ao público uma senhora que se dirigiu à Farmácia com uma receita médica pediu para ver uma infeção na pele que já estava a ser tratada à duas semanas através de uma terapêutica instituída pelo seu médico de família. Verifiquei juntamente com a restante equipa que o tratamento não estava a surtir o devido efeito porque a senhora aplicava o creme anti-fúngico (*Dermofix Creme – nitrato de sertaconazol*) apenas na zona afetada, e não em alguns centímetros à volta do exantema, pelo que a lesão foi se alastrando nos tecidos circundantes.

Este caso demonstra a importância da comunicação em termos de saúde e de acompanhamento médico, visto que era uma situação evitável e facilmente resolvida se a senhora tivesse sido informada de colocar o creme 2 centímetros à volta da lesão cutânea. A senhora quando se dirigiu à Farmácia para buscar os medicamentos da sua receita (não relacionados com a situação) pediu outros cremes ou produtos que fizessem efeito, uma vez que pensava que o que o médico lhe aconselhou não estava corretamente indicado.

Assim, foi importante a atitude do Farmacêutico em explicar que o medicamento estava bem indicado sem colocar em causa a posição do médico prescritor e dando todas as informações da aplicação correta do medicamento. Também foi importante perceber se a senhora ia ter nova consulta brevemente para análise da evolução da situação clínica.



Fotografia da lesão cutânea
(autorizada pela paciente).

Caso 4 - Infestação de Piolhos

Numa das semanas de estágio, vários pais deslocaram-se à farmácia, para obterem um produto eficaz contra os piolhos. Neste caso, verifiquei que várias crianças foram afetadas com esta situação e, por isso, foi muito importante o aconselhamento dado a todos os pais.

Aconselhei o produto Paranix[®] champô de tratamento, que corresponde a um dispositivo médico indicado no tratamento da pediculose, com dupla ação mecânica (não química) de desidratação e asfixia, atacando os piolhos e os seus ovos sem a utilização de qualquer inseticida. Indiquei o modo correto de aplicação para eliminação completa dos parasitas: aplicar em cabelo seco massajando da raiz até às pontas durante 10 minutos e enxaguar posteriormente, retirar os piolhos e lêndeas com o pente especial Paranix[®] presente na embalagem, e repetir o tratamento após 7 dias.

Os pais bastante indignados indicaram que falaram com a escola e que existem várias crianças que não fazem o tratamento ou que fazem num período de tempo diferente, pelo que aconselhei um *spray* de prevenção Paranix Repel[®]. Também indiquei a importância dos membros da família afetados, fazerem o tratamento no mesmo dia, e lavar as roupas, lençóis, toalhas e outros utensílios a elevada temperatura (superior a 50°C).

4. ADEQUAÇÃO DO MICF ÀS PERSPETIVAS PROFISSIONAIS FUTURAS

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas abrange as áreas de atuação do farmacêutico fornecendo conhecimentos e ferramentas imprescindíveis para entrada no mercado de trabalho e para posterior especialização. No entanto, com tantas unidades curriculares abrangendo diferentes vertentes que englobam a atividade farmacêutica é por vezes difícil conciliar os conhecimentos base com uma formação prática mais consolidada.

Na minha opinião, seria uma mais valia a integração de estágios durante o curso, uma vez que melhorariam o desempenho dos estudantes durante o seu percurso académico. Com isto, sempre procurei abraçar diferentes áreas através da participação em diferentes estágios extracurriculares, de modo a ter uma formação o mais completa possível. Penso que a melhor solução passaria pelo aluno ter uma formação mais específica e direcionada para os seus interesses nos dois anos de mestrado.

Por último, penso ser importante a reformulação e adaptação da unidade curricular de Dermofarmácia e Cosmética, Preparações de Uso Veterinário e Dispositivos Médicos à realidade do mercado de trabalho, uma vez que são áreas fundamentais de aconselhamento de produtos na Farmácia.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estágio em Farmácia Comunitária foi uma experiência única que me fez crescer como estudante e futura farmacêutica mas, principalmente, como pessoa.

A oportunidade de poder estar em contacto com os utentes permitiu-me conhecer a realidade da profissão farmacêutica e enaltecer a importância do Farmacêutico na sociedade, como profissional de saúde na atuação em prol da qualidade de vida da população. Permitiu-me conhecer e experienciar uma das áreas mais desafiantes, que nos coloca em contacto com inúmeras situações diferentes, mas também consolidar e adquirir novos conhecimentos quer sobre medicamentos e produtos farmacêuticos, quer sobre técnicas de gestão, economia, *marketing*, farmacovigilância, ou capacidade de comunicação com utentes e profissionais de saúde.

Na minha opinião, o estudante deve tentar entrar em contacto, sempre que possível, com todas as áreas de atuação da profissão antes de entrar no mercado de trabalho, uma vez que permite aumentar o nível de conhecimentos relacionados com todo o circuito do medicamento, ficando preparado para enfrentar os diversos desafios impostos num futuro cada vez mais incerto.

Por fim, posso referir que com esta experiência consegui adquirir as informações e confiança necessárias para atuar ao nível do mercado do medicamento, e desenvolver espírito crítico na resolução de diferentes problemáticas. Realçar ainda que consegui colocar em prática os conceitos de aconselhamento ético e adaptado a cada utente individualmente, tornando-me uma farmacêutica com capacidades técnicas, científicas e humanas para desenvolver todas as tarefas com a maior competência possível.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Academia OmegaPharma – Módulo educativo – A importância do código de cores em Marketing; Disposição de Produtos; Como conquistar a atenção do seu cliente? [Consultado a 24 de maio de 2017]. Disponível na internet: <http://academia.omega-pharma.pt>.

Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho, Anexo, Definições.

Despacho n.º 2935-B/2016, 2ª Série, 25 de fevereiro de 2016 - [s.d.].

Ministério da Saúde - Receita Eletrónica sem papel. SPMS [Consultado a 7 de maio de 2017]. Disponível na internet: <http://spms.min-saude.pt/product/receita-sem-papel/>.

Kaizen Institute Consulting Group - [Consultado a 7 de maio de 2017]. Disponível na internet: <https://pt.kaizen.com/success-stories/sectors/healthcare/healthcare.html>.

SILVEIRA, J. - **A verdade sobre os medicamentos esgotados**. Público. (2012). [Consultado a 21 de maio de 2017]. Disponível na internet: <https://www.publico.pt/opiniao/jornal/a-verdade-sobre-os-medicamentos-esgotados-25009560>.

PLURAL - **Medicamentos Esgotados, Uma Realidade (Des)conhecida**. (2011). [Consultado a 24 de maio de 2017]. Disponível na internet: <http://www.plural.pt/Portals/farbeira/Campanhas/2011/1%C2%BA%20Medicamentos%20Esgotados.pdf>.

Capítulo 2.

VACINAS DE RNA

Nova abordagem da Medicina Personalizada na Imunoterapia no Cancro

Tutora: Professora Doutora Olga Maria Fernandes Borges Ribeiro

LISTA DE ABREVIATURAS

- APC** - Célula apresentadora de antígeno (*antigen-presenting cell*)
- BCR-ABL** - Gene de fusão oncogénico (*breakpoint cluster region protein - Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1*)
- BIRC5** - Survivin (*baculoviral inhibitor of apoptosis repeat-containing 5*)
- CCR** - Cancro de células renais (*renal cell carcinoma*)
- CD137** - Recetor do fator de necrose tumoral 9 (*tumor necrosis factor receptor superfamily member 9*)
- CD40** - Proteína co-estimulatória (*cluster of differentiation 40*)
- CDK4** - Enzima cinase dependente da ciclina 4 (*cyclin-dependent kinase 4*)
- CD** - Célula dendrítica
- CGA** - Antígenos da linha germinal do cancro (*cancer germline antigens*)
- CNE** - Nanoemulsão catiónica (*cationic nanoemulsion*)
- CpG** - Sequência Citocina-Guanina no sentido 5'-3' na molécula de DNA (*cytosine being 5 prime to the guanine base*)
- CTCAE** - Critérios de terminologia comuns para eventos adversos (*Common Terminology Criteria for Adverse Events*)
- CTLA-4** - Proteína 4 associada aos linfócitos T citotóxicos (*cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*)
- DNA** - Ácido desoxirribonucleico (*deoxyribonucleic acid*)
- DOPE** - 1,2-Dioleoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (*1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoetanolamine*)
- DOTMA** - 1,2-di-O-octadecenil-3-trimetilamonio propano (*1,2-di-O-octadecenyl-3-trimethylammonium propane*)
- EA** - Efeito adverso
- EGFR** - Recetor do fator de crescimento epidérmico (*epidermal growth factor receptor*)
- ER(-)** - Recetor de estrogénio negativo (*estrogen receptors*)
- FDA** - Food and Drug Administration
- TNF- α** - Fator de necrose tumoral alfa (*tumor necrosis factor α*)
- GITR** - Recetor do fator de necrose tumoral 18 (*glucocorticoid-induced TNFR-related protein*)
- GLP** - Boas Práticas de Laboratório (*Good Laboratory Practice*)
- HER2(-)** - Recetor 2 do fator de crescimento epidérmico humano (*human epidermal growth factor receptor 2*)
- IAP** - Inibidor baculoviral da apoptose (*Baculovirus inhibitors of apoptosis*)
- ICH** - Conferência internacional de harmonização (*International Conference on Harmonisation*)
- IDO 1** - Inibidor indoleamina 2,3-dioxigenase 1 (*Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 inhibitors*)
- IFN- γ** - Interferão gama (*natural interferon gamma*)
- IFN- α** - Interferão alfa (*natural interferon alpha*)
- IL-2** - Interleucina 2 (*interleukin 2*)
- IL-7** - Interleucina 7 (*interleukin 7*)
- IL-10** - Interleucina 10 (*interleukin 10*)
- IL-12** - Interleucina 12 (*interleukin 12*)
- IL-15** - Interleucina 15 (*interleukin 15*)
- KRas** - Gene KRas (*Kras gene*)
- LAG3** - Gene 3 de ativação de linfócitos (*Lymphocyte-activation gene 3*)
- LNP** - Nanopartículas lipídicas (*Lipid nanoparticle*)
- MAGE - A1** - Gene do antígeno do melanoma humano A1 (*melanoma Antigen Gene A1*)
- MAGE - A3** - Gene do antígeno do melanoma humano A3 (*melanoma Antigen Gene A3*)
- MAGE - C1** - Gene do antígeno do melanoma C1 (*melanoma Antigen Gene C1*)
- MAGE - C2** - Gene do antígeno do melanoma C2 (*melanoma Antigen Gene C2*)
- MHC** - Complexo principal de histocompatibilidade (*major histocompatibility complex*)
- miRNA** - Ácido ribonucleico micro (*ribonucleic acid micro*)

mRNA - Ácido ribonucleico mensageiro
(*ribonucleic acid messenger*)

MSI - Instabilidade microsatélite
(*microsatellite instability*)

MUC I - Mucina I associada à superfície celular
(*mucin I cell surface associated*)

NGS - Sequenciação de próxima geração
(*next-generation sequencing*)

NSCLC - Cancro do pulmão de células não pequenas (non-small cell lung cancer)

NY-ESO-Y - Antígeno New York do carcinoma de células escamosas esofágicas I
(*new York esophageal squamous cell carcinoma-1*)

OMS - Organização mundial de saúde

ORF - Fase de leitura aberta (*open reading frame*)

OX40 - Proteína co-estimulatória (*cluster of differentiation 252*)

p53 - Gene supressor tumoral p53 (*tumor suppressor gene*)

PAP - Fosfatase ácida prostática (*prostatic acid phosphatase*)

PD-1 - Proteína I de morte celular programada (*programmed cell death protein 1*)

PD-L1 - Ligando de morte programada I
(*programmed death-ligand 1*)

PSA - Antígeno específico da próstata
(*prostate-specific antigen*)

PSCA - Antígeno de células estaminais da próstata (*prostate stem cell antigen*)

RB - Gene supressor de tumor retinoblastoma (*retinoblastoma tumor-suppressor gene*)

RH - Humidade relativa (*relative humidity*)

SCNA - Mutações no número de cópias somáticas (*large-scale somatic copy number alterations*)

SPA - Protocolo Especial de Avaliação (*special Protocol Assessment*)

SPM - Mutação tumoral do ponto somático
(*tumor's somatic point mutation*)

STEAPI - Antígeno epitelial 6 transmembranar da próstata I (*six-transmembrane epithelial antigen of the prostate 1*)

TAA - Antígeno associado a tumor (*tumor-associated antigens*)

TCGA - Atlas do genoma do cancro (*the cancer genome atlas*)

TGF-β - Fator de transformação do crescimento beta (*transforming growth factor*)

TIM3 - Recetor 3 inibidor de células T (*t-cell inhibitory receptor 3*)

TPBG - Glicoproteína de trofoblasto
(*trophoblast glycoprotein*)

TSA - Antígeno específico do tumor (*tumor antigen-specific*)

UTR - Região não codificante do RNA
(*untranslated region*)

RESUMO

O cancro corresponde a um termo coletivo que abrange uma multiplicidade de doenças, que apesar de diferentes entre si, surgem da mesma forma, mais especificamente, através de um crescimento celular descontrolado e invasivo, não reconhecido pelos linfócitos T *natural killer* do sistema imunitário. Atualmente, existem a nível mundial, milhões de pessoas que vivem com um diagnóstico de cancro, pelo que o desenvolvimento de novas terapêuticas, como a imuno-oncologia, constitui uma necessidade inquestionável.

Para o desenvolvimento de novas terapêuticas é fundamental a identificação correta de alvos terapêuticos, ou seja, a identificação das mutações genéticas tumorais que constituem uma fonte importante de neo-antígenos. Estão, por isso, a emergir significativamente vários métodos que auxiliam o prognóstico e desenvolvimento de terapêuticas específicas para cada paciente, através da sequenciação de próxima geração, proteómica, citometria de fluxo, espectrometria de massa e bioinformática.

A presente monografia procura apresentar os recentes avanços inovadores das investigações no âmbito da utilização da tecnologia de vacinas personalizadas de mRNA em diferentes tipos de cancro, reconhecendo o seu enorme interesse e potencial terapêutico.

Os ensaios clínicos desenvolvidos demonstraram que as vacinas de mRNA apresentam um perfil de segurança e tolerabilidade favorável, e implicações na capacidade de induzir respostas imunitárias celulares e humorais contra inúmeros antígenos. Atualmente, estão a decorrer vários ensaios clínicos que não se centram apenas na monoterapia com vacinas de mRNA, mas também na conjugação de terapêuticas combinadas sobretudo com *checkpoint-inhibitors*.

É de realçar que todos os desenvolvimentos pretendem transformar a complexidade do cancro na sua maior vulnerabilidade, inaugurando uma nova Era da Medicina Personalizada, como necessidade emergente em múltiplos doentes cancerígenos na qual outras opções farmacológicas não apresentam respostas satisfatórias.

PALAVRAS-CHAVE:

Cancro; Genoma; Imunoterapia; Vacinas de mRNA; Medicina Personalizada.

ABSTRACT

Cancer is a collective term which comprehends a multiplicity of diseases that, in spite of being different amongst each other, occur in the same form, more specifically through the uncontrolled invasive growth of cells which are not recognized by the Natural-Killer T-Lymphocytes of the immune system. Nowadays, there are thousands of people worldwide who live with a diagnosis of cancer, which makes the development of new treatments, such as immuno-oncology, an unquestionable necessity.

In order to accomplish the development of new therapeutic methods, it is essential to proceed to the correct identification of therapeutic targets, that is to say the identification of genetic mutations in the tumor, which represent an important source of neo-antigens. Therefore, there has been a significant progress on several methods which aid the prognostic and development of specific treatments for each patient, through techniques such as next-generation sequencing, proteomics, flux cytometry, mass spectrometry and bioinformatics.

This monography aims to present the recent advances of investigation in the context of the utilization of personalized mRNA vaccine technology in different types of cancer, recognizing its tremendous therapeutic potential.

The clinical trials developed demonstrated that the mRNA vaccines show a positive safety and tolerability profile, as well as some implications on the capacity to induce cellular and humoral immune responses against countless antigens. Currently, there are several clinical trials taking place, which are not centered exclusively on the monotherapy with mRNA vaccines, but also on the conjugation of combined therapy, especially *checkpoint-inhibitors*.

It is important to emphasize that every development aims to transform the complexity of cancer in its major vulnerability, unveiling a new Era of Personalized Medicine, as an emergent necessity in multiple cancer patients to which other pharmacological options are not satisfactory.

KEYWORDS:

Cancer; Genome; Immunotherapy; mRNA Vaccines; Personalized Medicine.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática da apresentação de antígenos associados a tumores (TAA) e neo-antígenos (TSA).

Figura 2 - Número de mutações tumorais expressas em diferentes tipos de cancro.

Figura 3 - Componentes base na estrutura do mRNA.

Figura 4 - Mecanismo de ação das vacinas RNActive® - Respostas imunitárias celulares e humorais equilibradas.

Figura 5 - Kaplan-Meier plots da sobrevivência global de acordo com as respostas imunológicas.

Figura 6 - Kaplan-Meier plots de sobrevivência global.

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Categorias de antígenos tumorais.

Tabela 2 - Lista de Ensaios Clínicos com Vacinas de RNA em Imuno-oncologia.

I. INTRODUÇÃO

Segundo a OMS, o cancro constitui uma das principais causas de morte em todo o mundo, existindo milhares de pessoas com um diagnóstico de cancro. Esta doença caracteriza-se principalmente por alterações nos mecanismos que controlam a proliferação, a diferenciação e a sobrevivência celular. Estas alterações traduzem-se numa excessiva proliferação das células em determinado tecido, resultando na formação de uma massa tumoral (neoplasia). As células alteradas ou malignas, em crescimento descontrolado e invasivo, podem migrar para locais distantes no organismo, através do sistema circulatório ou do sistema linfático, e colonizar vários órgãos, formando metástases.

O comportamento dos diferentes tipos de cancro, bem como a distribuição geográfica e a incidência dependem de múltiplos fatores como o sexo, idade, raça, predisposição genética e fatores ambientais (radiações ionizantes, agentes químicos carcinogénicos como nitrosaminas, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, e/ou aminas heterocíclicas), entre outros (Pinto, J. *et al.*, 2010).

Durante o processo de carcinogénese, as células experimentam modificações genéticas e epigenéticas responsáveis por esse comportamento maligno. Ou seja, as células tumorais são caracterizadas por apresentarem anormalidades nos cromossomas, refletindo uma instabilidade genómica, observando-se alterações nos vários processos metabólicos e nos componentes celulares durante a progressão da doença. Com isto, percebe-se que pequenas modificações nas sequências genéticas são responsáveis pela produção de proteínas diferentes através do processo de transcrição e tradução, que fazem com que a célula não funcione como deveria. Estas proteínas podem promover o crescimento rápido das células tumorais e provocar danos nas células e tecidos circundantes (Vormehr, M., 2016).

As mudanças genéticas e epigenéticas que promovem o crescimento descontrolado e a instabilidade genómica são principalmente: mutações não-sinónimas (“*non-synonymous mutations*” – mutação num nucleótido que altera a sequência de aminoácidos de uma proteína) nos genes supressores de tumores tais como p53, RB ou APC e proto-oncogenes (como por exemplo, os genes Ras); silenciamento epigenético de promotores de genes supressores de tumores por hipermetilação de dinucleótidos CpG; “*downregulation*” mediada por miRNA de genes de reparação de DNA; e infeções virais (Vormehr, M., 2016).

Assim, estudar o genoma do cancro, ou seja, toda a informação hereditária que está codificada no DNA, incluindo genes e sequências não-codificadoras, torna-se fundamental na identificação de um subtipo de cancro dentro de um tipo, mas também permite identificar alvos terapêuticos, e ajuda a desenvolver e a seleccionar o melhor tratamento para cada paciente.

A presente monografia tem como principais objetivos compreender a tecnologia das vacinas de mRNA como nova forma de imunoterapia no cancro e, conhecer e descrever os principais avanços científicos da mesma, como necessidade emergente em múltiplos doentes com cancro, nos quais outras opções farmacológicas não apresentam respostas satisfatórias.

II. O ATLAS DO GENOMA DO CANCRO

Para o desenvolvimento de novas terapêuticas é fundamental a identificação correta dos alvos terapêuticos mais adequados, ou seja, a identificação das mutações que representam uma fonte importante de antigénios tumorais. A comunidade científica tem feito um esforço no sentido de construir um atlas do genoma do cancro (TCGA; The Cancer Genoma Atlas).

O TCGA corresponde a um programa de pesquisa de alterações genómicas em 30 tipos de cancro no Ser Humano, através da comparação de DNA de amostras de tecido saudável e tecido tumoral em cada paciente, de modo a identificar essas mudanças específicas num determinado tipo de cancro. Como 2 pacientes com o mesmo tipo de cancro desenvolvem resultados diferentes e respostas terapêuticas diferentes, é importante analisar mudanças genómicas específicas para desenvolver terapêuticas individualizadas mais eficazes.

No entanto, não é apenas importante a sequência genómica, mas também o conhecimento da dinâmica que determina a expressão dos genes, permitindo saber como os genes funcionam, ou seja, o conhecimento do epigenoma do cancro.

Com um longo conjunto de sinalizadores bioquímicos ao longo de todo o genoma, o epigenoma é responsável por responder aos sinais ambientais, expressando ou não os genes, aumentando ou reduzindo a sua atividade.

O TCGA vai permitir encontrar novos alvos terapêuticos e lançar as bases para o desenvolvimento de terapêuticas personalizadas e individualizadas do cancro. A bioinformática permite catalogar as diversas mutações para cada tipo de cancro, mudanças genómicas e epigenómicas, e fazer um prognóstico da doença o mais correto possível (Zhang, X *et al.*, 2017; NIH, 2017; Tomczak, K. *et al.*, 2015).

III. INSTABILIDADE GENÓMICA NO CANCRO

A instabilidade genómica contribui para a heterogeneidade genética intra e intertumoral e é responsável pela diversidade fenotípica frequentemente observada entre os pacientes.

Anteriormente, a instabilidade estava associada a um mau prognóstico. No entanto, estudos recentes em tumores sólidos de origem epitelial demonstraram que a instabilidade tem importantes implicações prognósticas e terapêuticas, e pode constituir a base que auxilia a compreensão da sensibilidade do tumor à imunoterapia.

Existem evidências científicas que demonstram que a extensão das mutações não pode aumentar infinitamente, sem que com isso se possa prejudicar as normais funções celulares, implicando por isso a existência de um limite de tolerância da instabilidade genómica. Ou seja, verificou-se que quando existem níveis elevados de instabilidade, existe por exemplo um comprometimento da capacidade de replicação das células tumorais.

Os tumores com altos níveis de instabilidade são mais imunogénicos comparativamente a outros tipos de tumores com uma carga menos extensa de alterações genéticas. Estas conclusões foram obtidas a partir dos seguintes resultados descritos num trabalho publicado por Noemi Andor, Carlo Maley, e Hanlee Ji (Andor, N. *et al.*, 2017).

A partir do primeiro estudo conclui-se que os tumores com elevada carga de SPM (mutação tumoral do ponto somático; *tumor's somatic point mutation*), têm um prognóstico consideravelmente mais favorável em comparação com os que têm baixo conteúdo de SPMs. Isto foi verificado em pacientes com cancro colorretal com MSI (instabilidade microsatélite; *microsatellite instability*). O prognóstico favorável associado aos tumores MSI positivos sugere que as células tumorais MSI positivas têm dificuldade em tolerar a taxa em que os SPM se acumulam nesses tumores ou a carga geral de SPM, ou seja, existe uma melhor resposta à imunoterapia comparativamente a tumores geneticamente estáveis (Andor, N. *et al.*, 2017).

Num segundo estudo conclui-se que a carga cumulativa de SCNA (mutações no número de cópias somáticas; *large-scale somatic copy number alterations*) difere das SPM uma vez que abrange várias regiões do genoma da célula. Existem evidências que as SCNAs têm um papel mais significativo que as SPMs no desenvolvimento e manutenção da diversidade da população de células neoplásicas, sendo responsável pela substancial plasticidade fenotípica, e descrita como a força motriz da diversidade genética.

Este estudo no cancro da mama ER (-) revelou que os pacientes com tumores onde mais de 45% das células apresentavam anormalidades cromossómicas, exibiam um prognóstico significativamente melhor em comparação a pacientes com menor número dessas anormalidades. O estudo da expressão genética no cancro da mama ER (-) e HER2 (-) indicou que a maior instabilidade cromossómica estava associada a um maior tempo de recidiva desses tumores. Também foi demonstrado que os tumores escamosos de células não pequenas, tumores no ovário e gástricos onde se verificava alta instabilidade genómica, apresentavam uma progressão da doença mais lenta.

Com isto, os autores concluíram que os tumores com carga de SCNAs superior a 75% ultrapassavam um limiar de SCNAs toleráveis, o que limitava o potencial letal do tumor (Andor, N. *et al.*, 2017).

É de realçar que estes resultados têm que ser valorizados recorrendo a um maior número de ensaios clínicos com um maior número de pacientes, uma vez que apresentam importantes conclusões e implicações diretas na melhoria dos resultados clínicos obtidos, a partir de decisões clínicas corretas sobre a opção terapêutica mais adequada para cada paciente individualmente (Andor, N. *et al.*, 2017).

IV. IMUNO-ONCOLOGIA

A investigação, numa área clínica tão importante como o cancro é, inquestionavelmente, necessária e urgente. Assim, torna-se fundamental o desenvolvimento da imunooncologia, que corresponde a uma área terapêutica que tem como principal objetivo utilizar o próprio sistema imunológico dos doentes, para atacar as células cancerígenas, da mesma forma que responde e erradica uma infeção viral, microbiana, fúngica ou parasitária. Subjacente a esta capacidade está um conjunto vasto, mas específico, de genes e estruturas moleculares conhecido como imunoma humano, ou “*part lists*” do sistema imunológico. O imunoma humano é 100 bilhões de vezes maior que o Projeto do Genoma Humano, pelo que só recentemente com os avanços das tecnologias de sequenciamento genético (genómica e biologia de sistemas), proteómica, citometria de fluxo, espectrometria de massa e bioinformática, se tornou possível descobrir o imunoma pela primeira vez, abrindo uma nova possibilidade de compreensão e decodificação do sistema imunológico humano (Human Vaccines Project, 2017).

Para atingir este objetivo é fundamental que exista uma abordagem científica que permita responder a duas questões sobre imunologia humana, aplicáveis em todas as doenças: Quais os componentes ou partes do sistema imunológico são usados para reconhecer a doença? Quais os mecanismos que o sistema imunológico utiliza para combater a doença?

Torna-se necessário definir corretamente os componentes e mecanismos de proteção imunológica de modo a aumentar significativamente a capacidade de combater a doença, através de terapêuticas mais efetivas e seguras.

Com isto, o desenvolvimento de novos fármacos para tratamento do cancro constitui uma área em grande expansão, estando a emergir significativamente vários métodos para ultrapassar os mecanismos de fuga imunológicos e para induzir uma forte resposta imunitária contra o cancro.

São exemplo disso: a administração de citocinas activadoras como IFN α , IL-2, IL-7, IL-12 ou IL-15 e adjuvantes microbiológicos tais como ligandos dos receptores *Toll-like*; a neutralização de inibidores do sistema imunitário (por exemplo, TGF- β , IL-10, Arginase ou IDO1); a estimulação imunológica através de agonistas CD137, OX40, GITR ou CD40; ou o bloqueio através dos *checkpoint-inhibitors*, tais como CTLA-4, TIM3, LAG3, PD-1 / PD-L1, que constituem atualmente a grande novidade na imunoterapia devido particularmente aos resultados bastante promissores e à introdução bem sucedida no mercado (Vormehr, M., 2016).

Os dados obtidos nas investigações atuais permitem acelerar drasticamente o desenvolvimento de novos medicamentos, inaugurando uma nova Era, a Medicina Personalizada, e transformando o modo como os medicamentos são desenvolvidos e as doenças são tratadas (Vormehr, M., 2016).

Na presente monografia, vou aprofundar de forma particular a tecnologia das vacinas personalizadas, baseadas no mRNA, como a mais recente opção de imunoterapia para pacientes que não respondem às terapêuticas convencionais, enaltecendo a importância da combinação de imunoterapias na obtenção de resultados clínicos positivos.

V. ANTIGÉNIOS TUMORAIS RECONHECIDOS POR CÉLULAS T

Os antígenos tumorais reconhecidos por células T, constituem importantes alvos terapêuticos, sendo categorizados em três grupos principais, especialmente diferenciados pelo padrão de expressão, se são ou não compartilhados entre pacientes e até que ponto a tolerância central afeta a resposta das células T (Tabela I).

Tabela I - Categorias de Antígenos Tumorais (adaptada de Vormehr, M., 2016).

<i>Categoria</i>	<i>Sub-categoria</i>	<i>Compartilhado</i>	<i>Auto-tolerância</i>	<i>Auto-imunidade</i>	<i>Exemplos</i>
Antígenos associados a tumores (TAA)	Sobre-expresso	Sim	Sim	Sim	HER2, Survivin, VEGF, Telomerase
	Diferenciação	Sim	Sim	Sim	Tirosinase, NY-BR-1, Melan-A/MART-1, TRP-1/GP75, CEA
Antígenos da linha germinal do cancro (CGA)		Sim	Não (A)	Não (B)	MAGE-A1, MAGE-A3, BAGE-1, NY-ESO-1/LAGE-2
Antígenos específicos do tumor (TSA)	Mutado	Não (C)	Não (A)	Não	BCR-ABL, β -Catenina, Kras, p53, CDK4, Antígenos IVAC
	Viral	Sim	Não	Não	E6, E7 (HPV), HBs (HBV)

Legenda: Os antígenos tumorais podem ser categorizados em três classes. A- para alguns CGA ou mutações pontuais a tolerância pode desempenhar um papel específico; B- A autoimunidade contra CGA raramente foi observada; C- Algumas mutações são compartilhadas como BCR-ABL ou certas mutações de p53.

Antígenos associados a tumores

Os antígenos associados a tumores (TAAs) estão presentes no tecido saudável e tumoral e podem ser subcategorizados em antígenos sobre-expressos e de diferenciação. Os antígenos sobre-expressos, como por exemplo HER2 no cancro da mama, estão presentes no tecido saudável, mas numa extensão muito mais elevada nas células tumorais. Por outro lado, os antígenos de diferenciação, por exemplo a tirosinase, são principalmente expressos no tecido no qual o tumor se desenvolveu.

Como os TAAs são compartilhados entre os pacientes, a aplicação da imunoterapia pode ser utilizada para um amplo grupo simultaneamente. No entanto, apresenta um grande inconveniente, que corresponde ao mecanismo de tolerância central, e por conseguinte, a resposta de células T contra TAA é geralmente fraca (Figura 1). Além disso, a imunoterapia com células T contra TAAs pode levar a auto-imunidade grave, especialmente se o antígeno é expresso em órgãos como o cérebro, coração ou olho (Vormehr, M., 2016).

Os antígenos da linha germinal do cancro

Os antígenos da linha germinal do cancro (CGAs) estão presentes unicamente no tumor, em células germinativas masculinas, placenta ou em estádios iniciais de desenvolvimento embrionário. Os CGAs são antígenos tumorais compartilhados e em muitos casos a tolerância não desempenha um papel relevante devido à falta de expressão tímica (alguns CGAs como MAGE-A1 também são expressos no timo). Além disso, a falta de expressão em tecido saudável (as células germinativas não expressam moléculas de MHC) torna-os alvos adequados para a imunoterapia com células T (Vormehr, M., 2016).

Os antígenos específicos do tumor

Os antígenos específicos de tumores (TSA), em comparação com os TAAs, são expressos unicamente por células tumorais. Assim, as respostas das células T são menos suscetíveis de serem afetadas pela tolerância central, e não são esperados efeitos colaterais auto-imunes (Vormehr, M., 2016).

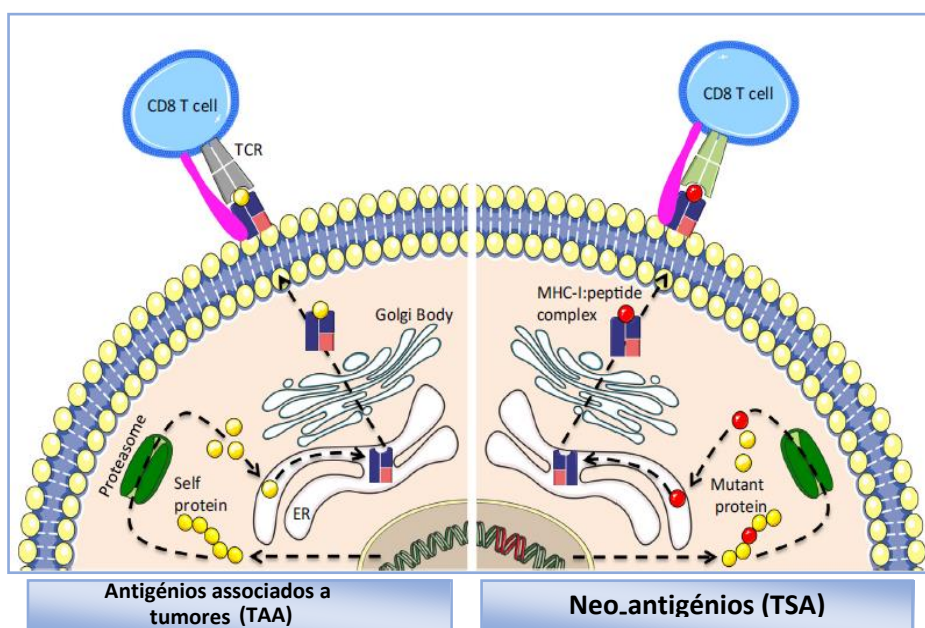


Figura 1 - Representação esquemática da apresentação de antígenos associados a tumores (TAA) e neo-antígenos (TSA) (Figura adaptada de Zhang, X et al., 2017).

VI. SUB-TIPAGEM DE NEO-ANTIGÉNIOS ESPECÍFICOS NO CANCRO

Até recentemente, a maioria das pesquisas concentrava-se na identificação de TAAs, na diferenciação e sobre-expressão de antígenos, bem como antígenos da linha germinal do cancro, uma vez que podem constituir alvos para imunoterapia em um amplo espectro de doentes.

Alguns desses antígenos são expressos no timo resultando na deleção de clones de linfócitos T por mecanismos de tolerância central. Este processo designa-se por seleção negativa e consiste na eliminação ou inativação de clones de linfócitos T capazes de reagir intensamente com os antígenos apresentados em moléculas de MHC no timo. Este processo garante a tolerância imunológica a alguns antígenos próprios, ou seja, previne o reconhecimento de auto-antígenos. Assim, os linfócitos T reconhecem prontamente os antígenos estranhos, mas em geral são incapazes de reconhecer auto-antígenos, incluindo a maioria dos antígenos tumorais. Este mecanismo de tolerância pode explicar os resultados decepcionantes nos estudos de vacinação clínica dirigida a TAA (Vormehr, M., 2016).

Em contrapartida, os TSA, os neo-antígenos, são expressos unicamente por células tumorais e por isso, as respostas das células T não são afetadas pela tolerância central.

Recentemente descobriu-se que os tumores expressam 10 a 1000 mutações não sinónimas individuais com potencial imunogénico, representando um enorme conjunto de alvos ideais para imunoterapia tumoral (Figura 2). Ou seja, os neo-antígenos gerados por mutações são alvos adequados das células T citotóxicas e “helper” (auxiliares) específicas do tumor do sistema imunológico (Vormehr, M., 2016).

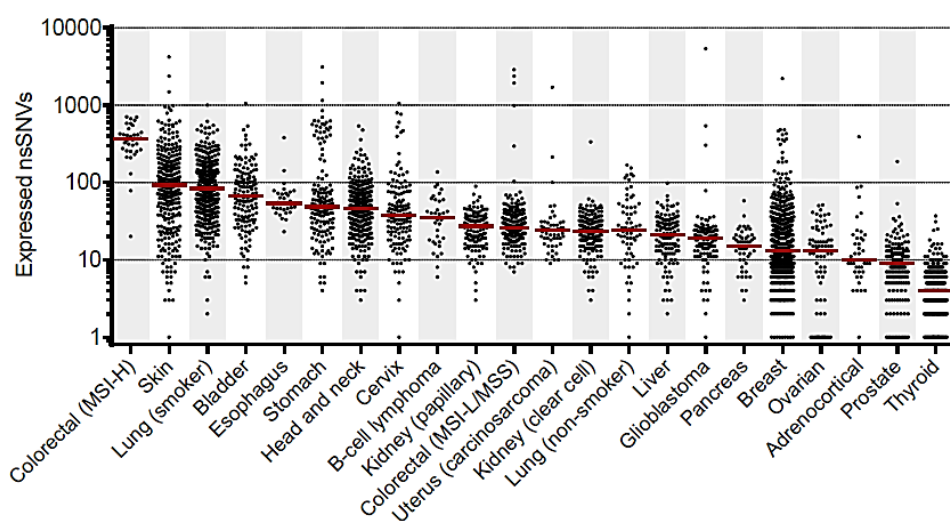


Figura 2 - Número de mutações tumorais expressas em diferentes tipos de cancro. Os dados de sequenciação de DNA e RNA obtidos a partir do TCGA foram utilizados para identificar o número

de SNVs (variações de um único nucleótido) não sinónimas (nsSNVs) em vários tipos de tumores. Cada ponto representa o número de nsSNVs expressos no tumor de um doente, e a linha vermelha demonstra a mediana (Figura adaptada a partir de Vormehr, M., 2016).

A exploração direta de antígenos mutados para imunoterapia restringia-se anteriormente a mutações tumorais compartilhadas entre pacientes como KRas, p53, CDK4, ou proteína de fusão BCR-ABL.

Infelizmente, a maioria das mutações são únicas para cada paciente pelo que requerem uma abordagem personalizada que se encontra em fase de investigação através da aplicação do sequenciamento de próxima geração. Ou seja, com os avanços das técnicas de sequenciamento de ácidos nucleicos, a análise, identificação e direcionamento das mutações individuais tornou-se viável através de *softwares* sofisticados.

Ao sequenciar o genoma, analisam-se os neo-antígenos específicos de cada paciente, que funcionam como impressões digitais escondidas no tumor (“*hidden fingerprint*”). Assim, espera-se através da investigação transformar a complexidade do cancro na sua maior vulnerabilidade (Zhang, X *et al.*, 2017; Genentech, 2016).

VII. IMUNOTERAPIA BASEADA EM mRNA

O princípio fundamental da terapêutica de mRNA é 'sequestrar' a maquinaria de translação da célula para produzir proteínas farmacologicamente ativas. Para isso, os mRNAs sintéticos seguem o modelo de mRNA natural, maduro e processado, e são expostos aos mesmos mecanismos reguladores. As exigências estruturais mínimas são uma região/extremidade 5', uma sequência poli A e uma estrutura de leitura aberta (ORF) e Y codifica a proteína de interesse, com um codão de iniciação circundante e flanqueado de uma região 5' e 3' não traduzidas (UTR) (Grunwitz, C. *et al.*, 2017).

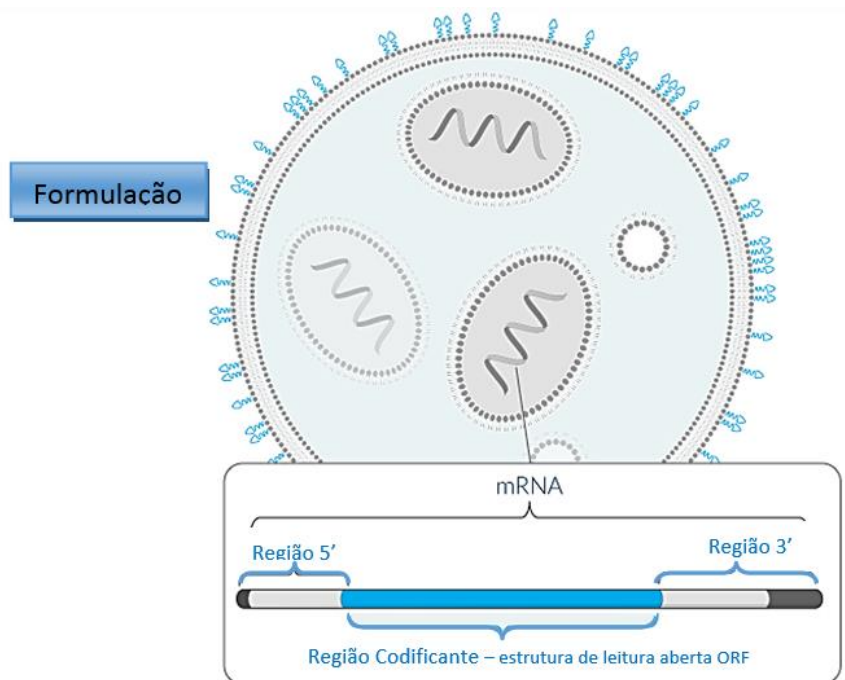


Figura 3 - Para um dado fármaco, os componentes de base são geralmente idênticos (região 5' e região 3'). Apenas a região de codificação varia de acordo com a(s) proteína(s) que se pretendem produzir a partir do mRNA (Figura adaptada de Moderna Therapeutics, 2017).

Seguidamente, estão descritas as principais etapas e especificidades da formulação das vacinas de mRNA, destacando a importância da seleção dos neo-antígenos adequados, e da otimização da entrega *in vivo* na maximização do seu potencial terapêutico.

Numa primeira fase da formulação da vacina é feita uma biópsia do tumor como fonte individual de DNA e RNA do doente. Neste processo, as mutações somáticas são identificadas pela comparação de dados de sequenciação do exoma de tecido saudável e dados do DNA tumoral. A sequenciação do transcriptoma de RNA do tumor fornece informação sobre os níveis de expressão das mutações identificadas (Vormehr, M., 2016).

Em segundo lugar, os neo-antígenos que são suscetíveis de induzir uma resposta de células T devem ser selecionados, sendo que a vacina que codifica os alvos de interesse é posteriormente fabricada (Vormehr, M., 2016).

Existem dois tipos de vacinas de mRNA que se encontram em diferentes fases de ensaios clínicos como: Vacinas constituídas por células dendríticas (CD) tratadas *ex vivo* com mRNA seguido de electroporação; e vacinas de mRNA complexado ou encapsulado para injeção direta.

Ao contrário da vacinação baseada em CDs, a vacinação direta de mRNA enfrenta várias barreiras biológicas enzimáticas, tecidulares e celulares que necessitam de ser superadas para que esta molécula especializada funcione como pretendido.

Estas barreiras podem ser resumidas como: barreiras desde o local de injeção até ao tecido alvo (células de interesse), isto é, CDs (barreiras extracelulares); barreiras na captação ativa de mRNA pela célula alvo (barreiras endocíticas); e barreiras que afetam a fuga endossomal e a libertação de mRNA para o citoplasma (barreiras intracelulares) (Grunwitz, C. *et al.*, 2017).

O RNA pode ser estável durante anos na ausência de RNases. No entanto, a degradação por RNases, tem dificultado a utilização direta de RNA *in vivo*, uma vez que a semi-vida sérica é bastante curta. Por esta razão, as vacinas de RNA são normalmente administradas através de transferência adotiva de CDs electroporadas, sendo um processo bastante exigente e dispendioso.

De modo a permitir a utilização direta *in vivo*, os investigadores tentaram introduzir várias modificações resultando num: aumento da estabilidade; aumento da eficiência de tradução do mRNA sintético em comparação com o mRNA convencional uma vez que facilitam a ligação ao ribossoma; atraso na degradação do mRNA; aumento da expressão de proteínas tanto *in vitro* como *in vivo*; e maior capacidade imunoestimuladora (DeFrancesco, L., 2017; Rauch, S. *et al.*, 2017; Curevac the RNA people, 2017).

Essas modificações podem diferir de acordo com o tipo de vacina a ser desenvolvido, sendo as mais comuns: a adição de uma sequência CAP (m7GpppG) à extremidade 5'; adição de uma sequência poliA na extremidade 3'; aumento do conteúdo em Guanina- Citosina (GC) na estrutura de leitura aberta ORF; ou complexar o mRNA com um adjuvante de forma a aumentar a estabilidade (DeFrancesco, L., 2017; Rauch, S. *et al.*, 2017; Curevac the RNA people, 2017).

Em 2005, Kaitlin Kariko, na Universidade da Pensilvânia demonstrou que a eficiência de tradução do mRNA podia ser melhorada pela substituição da uridina pela pseudouridina. Posteriormente, Derrick Rossi, cofundador da Moderna, na Harvard Medical School em Boston, demonstrou que a substituição da pseudouridina por uridina e 5 – metilcitidina funcionava ainda melhor. Outra modificação na molécula de RNA que aumenta a eficácia da vacina é a adição de uma região codificante de replicases virais, que torna a molécula auto-amplificadora. Melissa Moore, nova CSO da Moderna, está a aplicar os seus conhecimentos sobre a estrutura da ribonucleoproteína para aumentar o envolvimento dos ribossomas, e assim a tradução em proteínas. Moore demonstrou que a estrutura secundária influencia positivamente a eficiência translacional (DeFrancesco, L., 2017).

Outro grande desafio neste campo centra-se na entrega eficiente de mRNA, uma vez que determina significativamente os níveis, a duração e a regulação da expressão da resposta imunitária desejada. Assim, o desenvolvimento de vetores de entrega constitui uma tarefa crítica no funcionamento da vacina *in vivo*. Estes vetores além de protegerem o RNA da degradação enzimática das RNases, influenciam a captação e localização *in vivo* por apresentarem composição diferente (DeFrancesco, L., 2017).

Por exemplo, a Empresa Farmacêutica Novartis utiliza em alguns ensaios nanopartículas lipídicas catiónicas (LNP) que encapsulam o mRNA num envelope lipídico, enquanto que em outros utiliza uma nanoemulsão catiónica (CNE) com base no adjuvante MF59 que adsorve o mRNA na superfície da vesícula da fase lipídica (DeFrancesco, L., 2017).

Por outro lado, os investigadores da BioNtech testaram a variação sistemática de parâmetros de nanopartículas lipídicas (carga, tamanho e composição lipídica) e descobriram que, apesar da maioria das empresas utilizar vetores carregados positivamente para maximizar a eficiência da transfeção, o uso de partículas com carga ligeiramente negativa permitia que estas conseguissem chegar ao tecido linfóide. Além de protegerem a carga útil e mediar a captação e eventual expressão, estas partículas induzem a libertação do IFN - γ , conduzindo à maturação das CD_s *in situ* e uma forte resposta das células T (DeFrancesco, L., 2017).

VIII. DESENVOLVIMENTO CLÍNICO

Depois de vários anos de investigações e muitos esforços, as vacinas de RNA estão finalmente a emergir como uma real opção de imunoterapia, quer aplicada ao combate de pandemias mundiais, quer contra diferentes tipos de cancro.

"Vaccines on demand" ou vacinas personalizadas, constitui um dos conceitos mais atrativos atualmente na base da imunoterapia. Existem, por isso, diferentes Indústrias a desenvolver estudos e ensaios clínicos no desenvolvimento de vacinas de RNA na imunoterapia oncológica, com um enorme fluxo de financiamento e de novas pesquisas que prometem revigorar e alterar o conceito de tratamento do cancro (DeFrancesco, L., 2017).

A tabela 2 resume os principais ensaios clínicos que decorrem atualmente na área da imunoterapia com mRNA para o cancro.

Tabela 2 - Lista de Ensaios Clínicos com Vacinas de RNA em Imuno-oncologia (adaptada de DeFrancesco, L., 2017).

VACINAS DE RNA EM IMUNO-ONCOLOGIA				
<i>Indústria</i>	<i>Fármaco</i>	<i>Indicação terapêutica</i>	<i>Fase de desenvolvimento</i>	<i>Tipo de imunoterapia</i>
BioNTech	Lipo-MERIT	Melanoma	Fase I	Vacina tetravalente RNA-lipoplex (mRNA complexado num lipossoma).
BioNTech	IVAC mutanome	Melanoma	Fase I	Células mononucleares do sangue periférico (PBMC) electroporadas com o mRNA obtido <i>in vitro</i> .
BioNTech	TNBC - MERIT	Cancro da mama triplo-negativo	Fase I	mRNA obtido <i>in vitro</i> complexado num lipossoma.
CureVac	CV9103 e CV9104	Cancro da Próstata	Fase I, Fase 2	Injeção direta com tecnologia RNAActive®.
CureVac	CV9202 plus radiation	NSCLC	Fase I	Injeção direta com tecnologia RNAActive®.
Moderna & Merck	mRNA 4157	Cancro (Terapêutica Personalizada)	Fase Pré-clínica [GLP]	Injeção direta (mRNA encapsulado ou complexado).
Argos	AGS - 003	RCC (Carcinoma das Células Renais)	Fase 3	Transfecção de CD <i>ex vivo</i> com mRNA.
Argos	AGS - 003	NSCLC	Fase 2	Transfecção de CD <i>ex vivo</i> com mRNA.

ROCAPULDENCEL-T

A Indústria Argos Therapeutics está a desenvolver um ensaio clínico de Fase 3, com o principal objetivo de verificar a eficácia da terapêutica combinada da vacina Rocapuldencel-T (AGS-003) com o Sunitinib, no Cancro de Células Renais (CCR), em que a sobrevivência é de apenas aproximadamente 15 meses a partir do diagnóstico. A vacina AGS-003 foi desenvolvida a partir da extração e amplificação do mRNA e posterior transfecção de CD *ex vivo*. Antes da transfecção as CD foram pré-acondicionadas com uma mistura de agonistas do recetor do IFN- γ e/ou do recetor do FNT- α , seguido do acondicionamento transitório secundário com o agonista CD40L. A chamada "neo-imunidade" é ativada quando a imunização com a AGS-003, induz a ativação e expansão de novas células T (células de memória e células assassinas/killer), para atacar especificamente as células tumorais.

Neste estudo os pacientes foram estratificados de acordo com fatores de risco para a progressão da doença. Compara-se os resultados da terapia combinada nos pacientes recentemente diagnosticados com CCR avançado, com nefrectomia e doença metastática remanescente, com uma terapêutica direcionada apenas com Sunitinib (controlo), através de um Protocolo Especial de Avaliação (SPA), aprovado pela FDA.

Através desta combinação verificou-se uma sobrevivência geral média duas vezes maior do que aquela que foi demonstrada em estudos de monoterapia com o Sunitinib e outras terapias específicas em pacientes recém-diagnosticados com CCR avançado. Verificou-se que 2 pacientes permaneceram em remissão da doença ao longo de 7 anos. Neste ensaio, verificou-se também que a AGS-003 foi bem tolerada sem efeitos adversos graves verificados.

Atualmente está a desenvolver-se um estudo de segurança de fase II, não aleatorizado, em 20 pacientes recém-diagnosticados com NSCLC no estágio III, administrando AGS-003 de forma simultânea ou sequencial com regimes padrão de quimioterapia com carboplatina e paclitaxel, com ou sem radioterapia. O objetivo primário do estudo é avaliar a toxicidade da AGS-003 associada à quimioterapia padrão, e o objetivo secundário é verificar se existe a ativação das células T de memória entre os pacientes que completaram a terapia de indução com a administração de cinco ou mais doses de AGS-003. Esta empresa também pretende iniciar ensaios com a AGS-003 no cancro de bexiga invasivo e em combinação com checkpoint inhibitors no CCR (Argos Therapeutics, 2016).

TECNOLOGIA DE RNActive®,

A tecnologia de RNActive®, desenvolvida pela CureVac, corresponde a uma tecnologia inovadora de produção de vacinas personalizadas com base no RNA mensageiro (mRNA). Esta tecnologia demonstrou perfis de segurança e imunogenicidade favoráveis em ensaios clínicos para o cancro da próstata e cancro do pulmão, induzindo uma resposta imune humoral e de células T equilibrada.

Após a injeção intradérmica da vacina de RNActive®, o mRNA complexado com protamina (péptido catiónico que forma complexos estáveis com ácidos nucleicos) é reconhecido por receptores do tipo *Toll-like* e leva a ativação das APCs, que passam a expressar os antígenos correspondentes de forma apropriada. As células T auxiliares CD4+ só podem ser ativadas de uma forma específica se o antígeno tumoral for apresentado numa molécula de MHC classe II, enquanto que as células T citotóxicas CD8+ requerem um antígeno apresentado numa molécula de MHC classe I.

Assim, as APCs, como células dendríticas, têm a capacidade única de apresentarem antígenos tumorais às células T auxiliares CD4⁺ e células T citotóxicas CD8⁺ que ficam ativadas e vão reconhecer esses antígenos na superfície da célula tumoral, atacando-a (Figura 4). As imunoterapias com base no RNAActive® suportam a expressão de antígenos e a estimulação imune, mediada pelo recetor *Toll-like 7* (Rauch, S. et al., 2017).

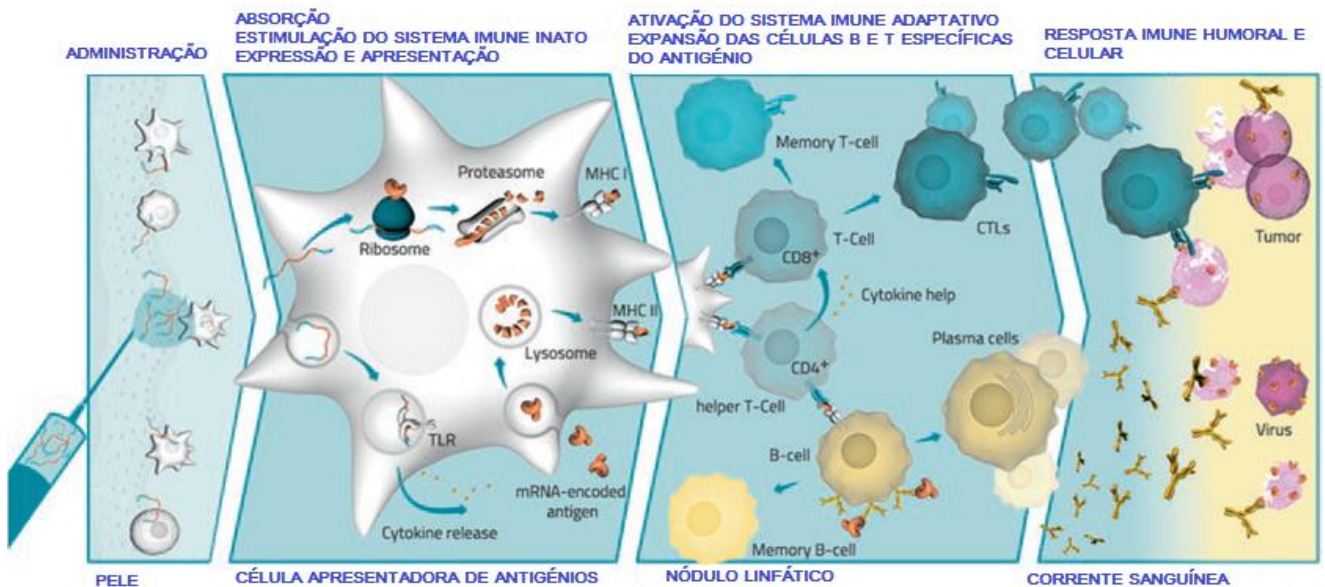


Figura 4 - Mecanismo de ação das vacinas RNAActive® - Respostas imunitárias celulares e humorais equilibradas (Imagem adaptada de Rauch, S. et al., 2017).

Vantagens da tecnologia de RNAActive®

- Não existe risco de integração genómica, uma vez que evita o uso de vetores virais e uma potencial imunidade anti-vetor;
- Alta flexibilidade uma vez que pode ser projetada para codificar uma ampla gama de proteínas alvo;
- Potencial único para o desenvolvimento de vacinas multivalentes abrangendo um elevado número de antígenos;
- Velocidade de produção maior comparativamente à maioria dos medicamentos e vacinas convencionais (tipicamente <2 meses);
- Estável à temperatura ambiente e temperaturas elevadas - pode ser formulado sem existir necessidade de condições especiais de armazenamneto a baixas temperaturas, como ocorre na maioria dos países em desenvolvimento;
- Capacidade de induzir respostas imunitárias celulares e humorais contra uma variedade de antígenos, demonstrada em estudos pré-clínicos e clínicos;

- Indução de respostas imunes celulares fortes, equilibradas e duradouras, demonstrada em modelos pré-clínicos (Curevac the RNA people, 2017).

Vacina RNActive® CV9103

CV9103 é uma vacina contra o cancro da próstata constituída por mRNA auto-adjuvante (RNActive®), que codifica 4 antigénios: PSA; PSMA; PSCA; STEAPI.

Um estudo de fase I / IIa avaliou a segurança e a imunogenicidade da vacina CV9103 em pacientes com cancro da próstata avançado resistente à castração.

Métodos

A fase I do estudo foi projetada para investigar a segurança e a dosagem recomendada de CV9103 a ser administrada, através de 12 pacientes com cinco injeções intradérmicas de 256 (n = 3), 640 (n = 3) ou 1280 µg (n = 6) mRNA.

Na fase IIa, foram selecionados 32 pacientes para receber a dose recomendada de 1280 µg de mRNA definida na Fase I. Com isto, o objetivo primário do estudo foi avaliar a segurança e a tolerabilidade da vacina, e o objetivo secundário foi avaliar a indução de respostas imunes específicas do antigénio monitorizadas na linha de base e nas semanas 5, 9 e 17 (Kübler, H. *et al.*, 2015).

Resultados

Os dados obtidos nos ensaios desenvolvidos indicaram que a CV9103 foi bem tolerada e apresenta um bom perfil de segurança, sendo a maioria dos efeitos adversos de intensidade leve a moderada. Os efeitos adversos (EA) relacionados com tratamento ocorreram em 39 (89%) pacientes, com um total de 282 EA reportados. Os EA mais frequentes relacionados com o tratamento foram o eritema no local da injeção e reação do local de injeção em 27 (61%) e 21 (48%) pacientes, respetivamente. Também foram relatados como EA a fadiga (18%), pirexia (16%), calafrios (11%) e sintomas gripais (11%).

Em 5 (11%) pacientes, foram relatados EA relacionados de CTCAE (Critérios de terminologia comuns para eventos adversos; *Common Terminology Criteria for Adverse Events*) grau 3, incluindo retenção urinária (n = 3), vómitos (n = 1), progressão da doença (n = 1), diminuição da contagem de neutrófilos (n = 1), dor lombar (n = 1), estado confuso (n = 2), dispareunia (n = 1) e hidronefroze (n = 1) (Kübler, H. *et al.*, 2015).

Os casos observados de retenção urinária e hidronefrose relatados neste estudo podem ter sido relacionados com a progressão do cancro, com massas tumorais que afetam a uretra ou os ureteres. No entanto, uma resposta imune induzida pela vacina pode estimular a infiltração de linfócitos no tumor, o que poderia resultar num aumento do volume tumoral representando uma pseudo-progressão, como relatado para outras imunoterapias. Por isso, esses efeitos podem estar associados à reação imune desejada contra o tumor, sendo necessários futuros ensaios com biópsias tumorais obtidas no momento do aumento do volume tumoral para esclarecer a etiologia desses efeitos.

Foi notificado um EA fatal para um paciente de 68 anos com metástases ósseas e história de doença pulmonar obstrutiva e insuficiência cardíaca direta. Ele foi hospitalizado por progressão da doença e broncopneumonia 1 mês depois de ter recebido a 4ª vacinação.

É importante indicar que não se observou nenhum EA clínico indicativo de reações auto-imunes após administração de CV9103 (Kübler, H. *et al.*, 2015).

Para avaliar o impacto clínico da CV9103 na existência de uma correlação entre a resposta imune e a sobrevivência foram avaliados imunologicamente 33 pacientes. Destes, 26 pacientes apresentaram doença metastática, incluindo 20 pacientes (77%) com respostas imunes celulares, conforme analisado por métodos *ex vivo* e 1 paciente (dentro desses 20 pacientes) apresentou uma resposta humoral adicional (Kübler, H. *et al.*, 2015).

Os dados recolhidos revelaram uma tendência para tempos de sobrevivência mais longos nos pacientes que responderam à vacina (Figura 5a).

Além disso, os pacientes que apresentaram uma resposta imunológica a mais de um antigénio (respondedores múltiplos) tiveram tempos de sobrevivência mais longos do que pacientes que não respondem ou pacientes que respondem a apenas um antigénio (HR = 0,41, [IC 95%: 0,17; 0,95]; p = 0,017). De destacar que as estimativas de sobrevivência de Kaplan-Meier foram mais elevadas em pacientes que responderam a 3 ou 4 antigénios de CV9103 (Figura 5b) (Kübler, H. *et al.*, 2015).

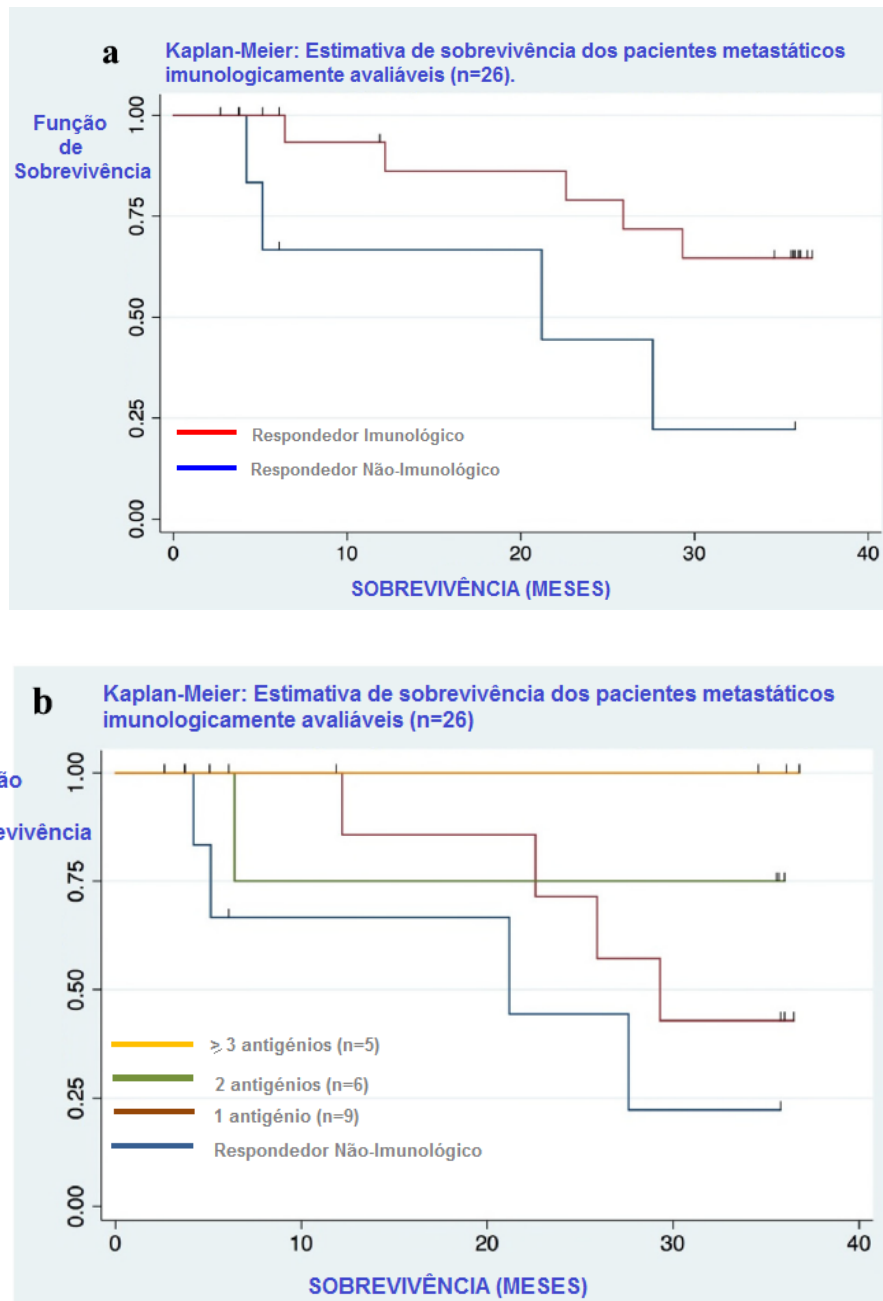


Figura 5 - Kaplan-Meier plots da sobrevivência global de acordo com as respostas imunológicas.

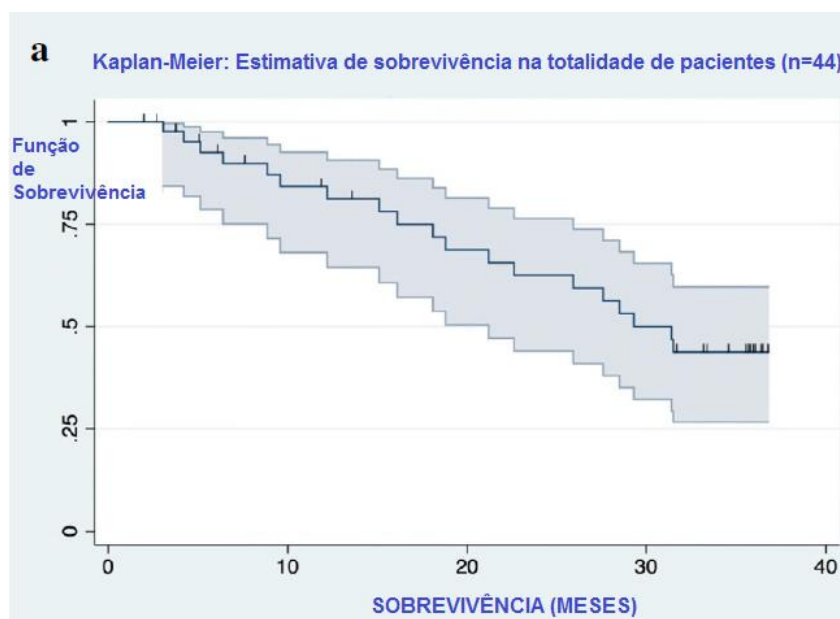
(A) Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier de pacientes metastáticos avaliáveis para respostas imunes (n = 26), incluindo respondedores imunológicos (n = 20) e não respondedores (n = 6). A Relação de Risco de sobrevivência para respondedores versus não respondedores foi de 0,30 [IC 95%: 0,08; 1,15], p = 0,09. **(B)** Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier de pacientes metastáticos avaliáveis para respostas imunes (n = 26), avaliadas de acordo com o número de antígenos CV9103 aos quais os pacientes responderam. O Ratio de risco foi de 0,41, [IC 95%: 0,17; 0,95] e p = 0,017 (Figura adaptada de Kübler, H. et al., 2015).

É de notar, que 58% (15/26) dos pacientes respondedores e 45% (15/33) de todos os pacientes avaliáveis com o nível de dose recomendado apresentaram respostas a múltiplos antígenos de vacinação (31% contra dois, 19% contra três, 8% contra todos os quatro antígenos).

Dados recentes publicados sobre uma abordagem de vacinação sugeriram que as respostas de múltiplos antígenos podem estar relacionadas a uma melhor sobrevivência. Também foi observada uma tendência para tempos de sobrevivência mais longos em pacientes que responderam a mais de um antígeno de CV9103.

Um paciente com metástases de linfonódulos e um score de Gleason de 9 no diagnóstico demonstrou uma resposta PSA confirmada com um declínio máximo de PSA superior a 80% em relação à linha de base na semana 23 sem qualquer terapia suplementar contra o cancro.

No total dos 44 pacientes a sobrevivência global média foi de 29.3 meses [CI 95%: 21,2; n.a.] (Figura 6a), enquanto que no subgrupo de 36 pacientes metastáticos, a estimativa de Kaplan-Meier da sobrevivência global média foi de 31,4 meses [95% CI: 21,2; n.a.] (Figura 6b) (Kübler, H. *et al.*, 2015).



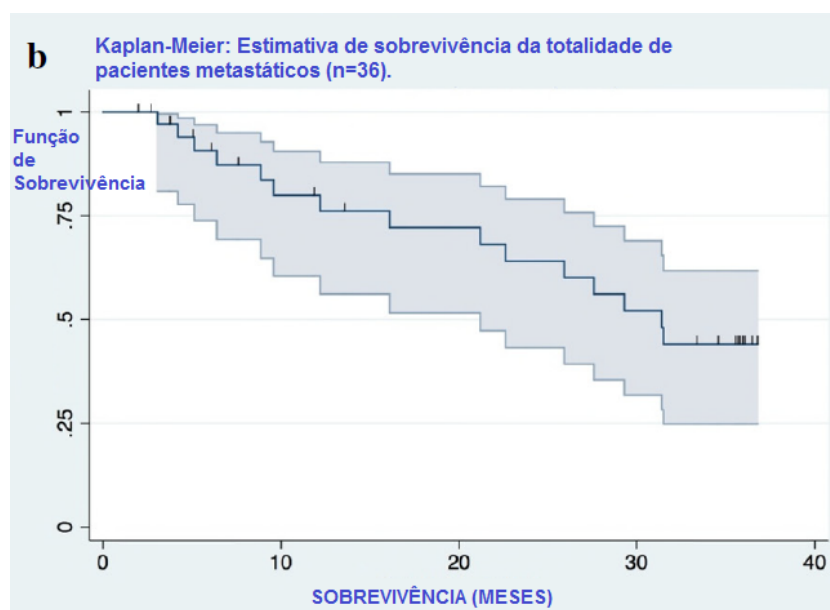


FIGURA 6 - Kaplan-Meier PLOTS de sobrevivência global. As estimativas de sobrevivência de Kaplan-Meier são apresentadas para: **(A)** Todos os pacientes (n = 44): o sistema operacional médio foi de 29,3 meses IC 95%: [21,2; n.a]. **(B)** Pacientes com doença metastática (n = 36): o sistema operacional médio foi de 31,4 meses IC 95%: [21,2; n.a] (Figura adaptada de Kübler, H. *et al.*, 2015).

Vacina RNActive® CV9104

Através dos resultados satisfatórios e na tentativa de compreender se as vacinas de RNActive® poderiam ser utilizadas em monoterapia, desenvolveu-se um ensaio clínico de fase IIb aleatorizado em 197 pacientes com cancro da próstata resistente à castração, com a vacina CV9104 desenvolvida para dois antigénios adicionais (além dos outros 4 da vacina CV9103): PAP e MUC1.

Em Janeiro de 2017 foi publicado na GEN (*Genetic Engineering and Biotechnology News*) que os resultados obtidos com a vacina CV9104 não cumpriram o objetivo primário de melhorar a sobrevivência global dos pacientes, uma vez que a Curevac definiu que nos ensaios clínicos realizados a sobrevivência sem progressão da doença foi idêntica no grupo com o tratamento, comparativamente ao grupo controlo.

Ingmar Hoerr, co-fundador e CEO da Curevac, diz reconhecer que a vacina não têm benefícios de sobrevivência quando usada em monoterapia em doentes com cancro da próstata metastático, indicando que os esforços atuais vão se centrar em ensaios clínicos com terapias combinadas da vacina com os *checkpoint-inhibitors* (Kübler, H. *et al.*, 2015; Curevac the RNA people, 2017).

Vacina RNActive® CV9202

A tecnologia RNActive® (CV9202 - BI 1361849) correspondente a uma vacina de mRNA polivalente auto-adjuvante, utilizada no tratamento do cancro do pulmão de células não pequenas (NSCLC), induz o sistema imunológico a iniciar uma resposta contra 6 antígenos celulares que estão especificamente associados a este tipo de cancro: IAP contendo a proteína 5 (BIRC5); TPBG, ou também conhecida como 5T4, M6PI, ou 5T4-AG; NY-ESO-1; MAGE C1; MAGE C2; e Muc I.

Os ensaios clínicos propostos para o NSCLC correspondem a: um ensaio primeiramente com quimiorradiação seguido de monoterapia com a vacina em NSCLC localmente avançado (estádio III inoperável); e um ensaio com o afatinib (inibidor covalente irreversível de EGFR e do HER2) com a vacina em NSCLC metastático (estádio IV) com ativação da mutação EGFR comum. Encontram-se também em fase pré-clínica outros ensaios baseados em imunoterapias combinadas da vacina com *checkpoint-inhibitors*, e da vacina com anti-PD1 depois da quimiorradiação (Curevac the RNA people, 2017).

IX.CONCLUSÃO

A descoberta do genoma do cancro e do imunoma humano, através dos avanços recentes nas técnicas de sequenciamento de próxima geração e bioinformática, abriram uma enorme oportunidade de investigação e desenvolvimento de terapêuticas imunológicas no cancro. O sequenciamento tem implicações no diagnóstico, prognóstico e terapêutica uma vez que permite definir o limite de instabilidade genética, que se relaciona com o potencial letal do tumor e progressão da doença.

Ao sequenciar o genoma, analisam-se os neo-antígenos específicos de cada paciente, que funcionam como impressões digitais escondidas no tumor, permitindo posteriormente o desenvolvimento de uma vacina individualizada direcionada para esses antígenos específicos.

No desenvolvimento da vacina, verificou-se que as modificações na estrutura da molécula de mRNA necessárias para aplicação da vacina *in vivo*, têm influência na eficiência translacional e apresentam diversas vantagens como aumento da estabilidade e da expressão de proteínas, atraso na degradação do mRNA e maior capacidade imunoestimuladora.

O desenvolvimento de vetores de entrega, para proteção do mRNA da degradação enzimática por RNAses, também constitui um componente crítico no funcionamento da vacina *in vivo*, uma vez que influencia o transporte do mRNA desde o local de injeção até ao local pretendido no organismo, que por conseguinte, influencia a eficácia da vacinação.

Através dos diferentes ensaios clínicos analisados definiu-se que a vacinação com mRNA contra neo-antígenos específicos do tumor, constitui uma tecnologia inovadora que demonstrou perfis de segurança e imunogenicidade favoráveis, induzindo uma resposta imune humoral e celular equilibrada.

Esta tecnologia foi considerada segura uma vez que nenhum dos pacientes apresentou evidência de auto-imunidade. Assim, as vacinas apresentam um perfil de segurança e tolerabilidade aceitáveis, sendo os principais efeitos adversos verificados de intensidade leve a moderada, como reações no local de injeção, fadiga, piroxia, calafrios e sintomas gripais.

Para a vacina RActive® (CV9103), os dados recolhidos revelaram uma tendência para tempos de sobrevivência mais longos nos pacientes que responderam à vacina. Além disso, concluiu-se que os pacientes que apresentaram uma resposta imunológica a mais de um antígeno (respondedores múltiplos) tiveram tempos de sobrevivência mais longos do que pacientes que não respondem ou pacientes que respondem a apenas um antígeno.

Os resultados obtidos com a vacina CV9104 não cumpriram o objetivo primário de melhorar a sobrevivência global dos pacientes, pelo que se reconheceu que a vacina não têm benefícios de sobrevivência quando usada em monoterapia em doentes com cancro da próstata metastático, indicando que os esforços atuais vão se centrar em ensaios clínicos com terapias combinadas da vacina com os *checkpoint-inhibitors*.

Pode ser concluído que o sucesso recente obtido com os *checkpoint-inhibitors*, juntamente com os resultados nas vacinas de mRNA, intensificam a necessidade de explorar uma grande quantidade de estratégias imunológicas de combinações potencialmente sinérgicas. Essas combinações podem incluir a quimioterapia, cirurgia, reprogramação vascular, reversão de Treg e/ou MDSC (células supressoras derivadas mielóides), ou *checkpoint-inhibitors* direcionados para PDI, PD-L1 ou CTL4, entre outros.

Em conclusão, pode ser inferido que as vacinas personalizadas de mRNA estão cada vez mais próximas de constituir uma opção promissora de imunoterapia para milhares de doentes cancerígenos. Todos os resultados obtidos são um passo em frente monumental no tratamento do cancro e constituem uma nova esperança no aumento da sobrevivência, ou até mesmo, da obtenção da cura nos diversos tipos de cancro.

X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

PINTO, J.; ALMEIDA, C.; CARRILHO, E.; FIGUEIRA, M.; GONÇALVES, M.; MARTINS, A.; MESQUITA, M.; SOARES, M.; SOVERAL, G.; SILVA, O. - **Nutracêuticos e Alimentos Funcionais** – 1º Ed. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, 2010. ISBN 978-972-757-624-1.

VORMEHR, M. - **Mutated neo-antigens as targets for individualized cancer immunotherapy**. University Johannes Gutenberg, Mainz. 2016. Doctoral dissertation.

ZHANG, X.; SHARMA, P.; GOEDEGEBUURE, S.; GILLANDERS, W. - **Personalized cancer vaccines: Targeting the cancer mutanome**. Elsevier. Vol. 35, 7 (2017), 1094 - 1100.

NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH (NIH) – **The Cancer Genome Atlas** (2017) [Acedido a 27 de abril de 2017]. Disponível em: <https://cancergenome.nih.gov/>

TOMCZAK, K.; CZERWIŃSKA, P.; WIZNEROWICZ, M. - **The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge**. Contemporary Oncology. Vol. 19, 1A (2015), 68-77.

GRUNWITZ, C.; KRANZ, L.; - **mRNA Cancer Vaccines - Messages that Prevail**. Current Topics in Microbiology and Immunology. Germany: Springer Berlin Heidelberg, 2017. ISSN 0070-217X, 1-20.

ANDOR, N.; MALEY, C.; JI, H. - **Genomic Instability in Cancer: Teetering on the Limit of Tolerance**. American Association for Cancer Research. ISSN 1538-7445. Vol. 77, 9 (2017), 2179-2185.

HUMAN VACCINES PROJECT - **The human immunome program** (2017) [Acedido a 18 de junho de 2017]. Disponível em: <http://www.humanvaccinesproject.org/work/human-immunome-program/>

GENENTECH - **Decoding Cancer** (2016) [Acedido a 10 de março de 2017]. Disponível em: <https://www.gene.com/stories/decoding-cancer>.

MODERNA THERAPEUTICS - **Our mRNA Drugs – The ‘Software’** (2017) [Acedido a 28 de abril de 2017]. Disponível em: <https://www.modernatx.com/mrna-technology/our-mrna-platform>.

ARGOS THERAPEUTICS - **Precision Immunotherapy – Activating neo-immunity** (2016) [Acedido a 27 de abril de 2017]. Disponível em: <http://www.argostherapeutics.com/precision-immunotherapy/arcelis-platform/>

RAUCH, S.; LUTZ, J.; KOWALCZYK, A.; SCHLAKE, T.; HEIDENREICH, R. - **RNAActive® Technology: Generation and Testing of Stable and Immunogenic mRNA Vaccines**. Kramps, T.; Elbers, K.. *RNA Vaccines: Methods and Protocols*, Methods in Molecular Biology. New York: Springer Science and Business, 2017. ISBN 978-1-4939-6481-9, 89-107.

DEFRANCESCO, L. - **The ‘anti-hype’ vaccine**. *Nature biotechnology*. Vol. 35, 3 (2017), 193-197.

CUREVAC THE RNA PEOPLE - **RNAActive® Cancer Immunotherapies and Prophylactic Vaccines** (2017) [Acedido a 15 de abril de 2017]. Disponível em: <http://www.curevac.com/rna-platform/rnactiver/>

KÜBLER, H.; SCHEEL, B.; GNAD-VOGT, U.; MILLER, K.; SCHULTZE-SEEMANN, W.; VOM DORP, F.; PARMIANI, G.; HAMPEL, C.; WEDEL, S.; TROJAN, L.; JOCHAM, D.; MAURER, T.; RIPPIN, G.; FOTIN-MLECZEK, M.; MÜLBE, F.; PROBST, J.; HOERR, I.; KALLEN, K.; LANDER, T.; STENZL, A. - **Self-adjuvanted mRNA vaccination in advanced prostate cancer patients: a first-in-man phase I/IIa study**. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, Vol. 3, 26. (2015).

CUREVAC THE RNA PEOPLE - **From Science to Patients – Ideas Become Treatments at CureVac** (2017) [Acedido a 20 de abril de 2017]. Disponível em: <http://www.curevac.com/research-development/>

Imagem da Capa:

A primeira imagem presente na capa deste documento corresponde a uma compilação desenvolvida a partir de duas imagens.

A imagem com a mão do idoso com um medicamento, foi adaptada de um programa de imagens – Getty Images – disponível em: <http://www.gettyimages.pt/license/72664945>. Esta imagem remete para o Primeiro Capítulo deste documento referente ao Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária, uma vez que na Farmácia Roldão a grande maioria de utentes com a qual contactei foram utentes geriátricos, normalmente polimedicados.

A imagem com a vacina de RNA remete para o Segundo Capítulo da Monografia – “VACINAS DE RNA: Nova abordagem da Medicina Personalizada na Imunoterapia no Cancro” – e foi adaptada do conceito “Vaccines on demand” a partir do trabalho desenvolvido por:

DEFRANCESCO, L. - **The ‘anti-hype’ vaccine**. Nature biotechnology. Vol. 35, 3 (2017), 193-197.