

Ana Carolina Neves Ferreira

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Desafios da Imunoterapia no Tratamento do Adenocarcinoma Pulmonar” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Filipa Cardoso, da Dra. Cidália Roxo e da Professora Doutora Teresa Dinis e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Ana Carolina Neves Ferreira

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Desafios da Imunoterapia no Tratamento do Adenocarcinoma Pulmonar” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, respetivamente, da Dr.<sup>a</sup> Filipa Cardoso, da Dr.<sup>a</sup> Cidália Roxo e da Professora Doutora Teresa Dinis e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro 2018




FFUC FACULDADE DE FARMÁCIA  
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Ana Carolina Neves Ferreira, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2013156413, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Desafios da Imunoterapia no Tratamento do Adenocarcinoma Pulmonar” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 06 de setembro de 2018.



---

(Ana Carolina Neves Ferreira)

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e irmão, por sempre me incentivarem a querer mais e melhor para mim, pelo apoio, por me possibilitarem tudo isto, por serem um modelo de força e perseverança e por me deixarem cheia de orgulho das minhas origens.

À minha família em geral, por sempre estarem presentes e por sempre torcerem por mim.

À Penas, à Sofia, à Ana, ao Diogo e ao Ricardo, a minha segunda família. Um obrigada por todas as memórias, todas as confidências, todas as palhaçadas, toda a força e por nunca, por um minuto, me deixarem sentir sozinha.

Aos meus amigos, obrigada por tantas e boas memórias e por fazerem de Coimbra o que as canções enaltecem: um lugar que fica para a vida, de lição de sonho e tradição.

Ao Henrique, a minha estrelinha que tanto me guia e tanta força me dá. Prometo sempre tentar deixar-te orgulhoso.

À Professora Doutora Teresa Dinis, por todas as orientações dadas e pela disponibilidade.

Às minhas orientadoras de estágio, Dr.<sup>a</sup> Filipa Cardoso e Dr.<sup>a</sup> Cidália Roxo, e aos meus colegas de estágio. Obrigada por me acolherem e darem o apoio necessário.

À D<sup>a</sup> Ana e a toda a sua equipa, por todo o trabalho que têm para se certificarem que obtemos o melhor resultado final possível.

A Coimbra, por tanto amor me ter dado!

“E aprende-se a dizer saudade” – Amália Rodrigues

## ÍNDICE

<b>PARTE I – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA HOSPITALAR</b> .....	8
Lista de Abreviaturas .....	9
1. INTRODUÇÃO .....	10
2. ANÁLISE SWOT.....	11
2.1. PONTOS FORTES.....	11
2.1.1. Plano de estágio.....	11
2.1.2. Validação farmacoterapêutica das prescrições .....	11
2.1.3. Manipulação de Preparações Estéreis e Não Estéreis .....	11
2.1.4. Oncologia .....	12
2.1.5. Troca de Estagiários com a CUF Infante Santo.....	12
2.2. PONTOS FRACOS .....	13
2.2.1. Demasiados Estagiários.....	13
2.2.2. Equipa Reduzida.....	13
2.2.3. Ausência de contacto com os doentes .....	13
2.2.4. Pouco contacto com as tarefas do farmacêutico hospitalar.....	13
2.2.5. Falta de Conhecimentos Clínicos .....	14
2.3. OPORTUNIDADES .....	14
2.3.1. Reuniões Clínicas.....	14
2.4. AMEAÇAS .....	14
2.4.1. Falta de acesso à medicação feita no domicílio .....	14
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	15
FONTES BIBLIOGRÁFICAS .....	16
<b>PARTE II – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA</b> .....	17
Lista de Abreviaturas .....	18
1. INTRODUÇÃO .....	19
2. ANÁLISE SWOT.....	20
2.1. PONTOS FORTES.....	20
2.1.1. Valorização do Utente .....	20
2.1.2. Preparação de Medicamentos Manipulados .....	20
2.1.3. Elevada Quantidade de Receituário .....	21
2.1.4. Formações.....	21
2.1.5. Determinação de Parâmetros Bioquímicos e Outras Determinações.....	21

2.1.6. Dermocosmética Dirigida para Peles Sensíveis .....	21
2.2. PONTOS FRACOS .....	22
2.2.1. Pouca Puericultura .....	22
2.2.2. Pouca Cosmética .....	22
2.2.3. Aconselhamento de Produtos de Veterinária.....	22
2.3. OPORTUNIDADES .....	22
2.3.1. Familiarização com os Utentes.....	22
2.3.2. Dermatologia.....	23
2.3.3. Elevada Procura de Vitaminas e Suplementos .....	23
2.3.4. Locais de Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica .....	23
2.4. AMEAÇAS .....	24
2.4.1. Desacreditação do Farmacêutico .....	24
2.4.2. Locais de Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica .....	24
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	25
FONTES BIBLIOGRÁFICAS .....	26
ANEXOS .....	27
<b>PARTE III – MONOGRAFIA: Desafios da Imunoterapia no Tratamento do</b>	
<b>Adenocarcinoma Pulmonar .....</b>	<b>36</b>
Lista de Abreviaturas .....	37
RESUMO .....	39
ABSTRACT .....	40
I. INTRODUÇÃO .....	41
2. CANCRO: UMA DOENÇA MUTACIONAL SOMÁTICA.....	42
2.1. TIPOS DE NEOPLASIAS.....	44
3. CANCRO DO PULMÃO .....	44
3.1. ETIOLOGIA .....	45
3.1.1. Tabagismo .....	45
3.1.2. Exposição Ocupacional .....	46
3.1.3. Fatores Genéticos .....	46
3.2. TIPOS HISTOLÓGICOS.....	46
4. ADENOCARCINOMA PULMONAR.....	47
4.1. TERAPIA CONVENCIONAL .....	47
4.1.1. Tumores de Fases I, II e III .....	48
4.1.2. Tumores de Fase IV .....	48
4.2. ALTERAÇÕES EPIGENÉTICAS E ALVOS TERAPÊUTICOS .....	49

4.2.1. Mutação EGFR .....	50
4.2.2. Fusão ALK.....	51
5. IMUNOTERAPIA NO ADENOCARCINOMA PULMONAR .....	51
5.1. INIBIDORES CHECKPOINT .....	51
5.1.1. PDI/PD-LI .....	53
5.2. DESAFIOS DOS INIBIDORES CHECKPOINT E PERSPETIVAS FUTURAS...	54
5.2.1. Heterogeneidade de Resposta aos Inibidores Checkpoint.....	54
5.2.2. Progressão da Doença com Desenvolvimento de Resistência .....	55
5.2.3. Indução de Células T reguladoras .....	55
5.2.4. Expressão de PD-LI e Mutações Associadas.....	56
5.3. VACINAS.....	56
5.3.1. Viroterapia Oncolítica.....	57
5.3.2. Vacinas de DNA associadas ao sPD-I .....	57
5.3.3. Anticorpos Induzidos por Vacinas para NSCLC com mutação EGFR.....	58
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	59
BIBLIOGRAFIA .....	61



# PARTE I – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA HOSPITALAR



## **Lista de Abreviaturas**

HCD – Hospital CUF Descobertas

SF – Serviços Farmacêuticos

## I. INTRODUÇÃO

O presente relatório diz respeito ao estágio efetuado no âmbito da unidade curricular “Estágio Curricular” nos serviços farmacêuticos do Hospital CUF Descobertas, em Lisboa, sob orientação da Dr.<sup>a</sup> Filipa Cardoso.

O farmacêutico hospitalar deve possuir um elevado número de competências que lhe permitam efetuar funções relacionadas com os processos logísticos do medicamento e produtos farmacêuticos, a gestão do medicamento, a distribuição e dispensa de medicamentos, a farmacotecnia, a farmácia clínica/cuidados farmacêuticos (inclui-se o seguimento farmacoterapêutico, a reconciliação da terapêutica, a farmacocinética, a validação das prescrições, nutrição clínica, farmacovigilância e ensaios clínicos), a qualidade e segurança do doente, a gestão de informação, a clínica e investigação e a dispensa de medicamentos em ambulatório (Ordem dos Farmacêuticos).

No hospital CUF Descobertas (HCD), os valores de respeito pela dignidade e pelo bem-estar da pessoa, desenvolvimento humano, competência e inovação do grupo José de Mello Saúde (JOSÉ DE MELLO SAÚDE) são tidos em conta na execução dos serviços farmacêuticos sob a supervisão da Dr.<sup>a</sup> Ana Margarida Freitas.

Seguindo um modelo de análise SWOT, o relatório será um meio de avaliação introspectiva, abordando os pontos fortes (*strenghts*), pontos fracos (*weaknesses*), oportunidades (*opportunities*) e ameaças (*threats*) que foram surgindo durante o período de 2 meses em que o estágio decorreu.

## **2. ANÁLISE SWOT**

### 2.1. PONTOS FORTES

#### 2.1.1. Plano de estágio

Na primeira semana, foi-nos feito um plano de estágio que, em cada semana, nos atribuía a estadia numa das áreas dos serviços farmacêuticos (SF): gestão e garantia de qualidade, preparações de estéreis e não estéreis, oncologia, farmácia clínica e distribuição e armazenamento de medicamentos. Cada uma destas semanas iniciava-se com o estudo da respetiva secção do manual das boas práticas hospitalares e, quando adequado, com o estudo de *guidelines* e artigos relacionados com a área.

O facto de cada estagiária ter sido designada para uma área permitiu que, por exemplo na área da Preparações de Estéreis e Não Estéreis, pudéssemos ter um envolvimento mais ativo.

#### 2.1.2. Validação farmacoterapêutica das prescrições

Na semana de farmácia clínica, tivemos a oportunidade de acompanhar as farmacêuticas durante a validação das prescrições dos doentes, durante a qual era feita uma rápida análise dos seus resultados bioquímicos e evolução clínica, confrontando depois estas condições com as *guidelines* e com os pedidos de medicação.

A meu ver, esta é a função que mais desenvolvimento deveria sofrer a nível da farmácia hospitalar pois, embora na CUF Descobertas o processo seja feito como descrito, de forma ponderada e cuidadosa, nem em todos os hospitais o farmacêutico pode disponibilizar tanto tempo para a avaliação das prescrições. Esta é uma tarefa que exige muitos conhecimentos clínicos e farmacológicos e uma atualização constante dos conhecimentos dos profissionais, tendo sido realmente desafiante tentar fazê-lo e um grande benefício para o meu desenvolvimento profissional, visto que houve muitos períodos em que tive de estudar para situações específicas como a antibioterapia na cistite e na pielonefrite.

#### 2.1.3. Manipulação de Preparações Estéreis e Não Estéreis

O HCD prepara medicamentos manipulados não só para o uso nas suas instalações, como também para outros hospitais do grupo José de Mello Saúde e alguns hospitais públicos como era o caso das injeções oculares de bevacizumab.

A execução de preparações não estéreis incluía a preparação de cápsulas para estudos de alergologia, a preparação de soluções cutâneas, de papéis medicamentosos e de xaropes,

sendo preciso executar as fichas de preparação e existir sempre uma segunda pessoa que valide todos os passos de modo a assegurar a segurança e qualidade das preparações.

Quanto à execução de preparações estéreis, esta era executada numa câmara de fluxo horizontal e correspondia, principalmente, à preparação de nutrição parentérica e de preparações oculares.

Estas tarefas foram precedidas por um estudo dos temas e das boas práticas constantes no manual hospitalar, bem contribuindo bastante para aumentar os meus conhecimentos neste sentido.

#### 2.1.4. Oncologia

Talvez um dos maiores benefícios do meu estágio no HCD tenha sido o facto de se fazer preparação de tratamentos oncológicos. Na faculdade, não temos qualquer formação relacionada com citotóxicos ou com tratamentos oncológicos e a realidade é que esta área é uma área vastíssima e muito complexa e que faz parte da realidade do farmacêutico hospitalar.

Embora, por motivos óbvios de segurança, não pudesse ter um papel prático nesta área, pude assistir ao processo, a todas as medidas de segurança na preparação e transporte dos citotóxicos e, mais importante, pude aprender sobre a forma como os ciclos de quimioterapia ocorrem e sobre a pré-medicação e escolha de tratamentos de forma adaptada a cada doente.

#### 2.1.5. Troca de Estagiários com a CUF Infante Santo

Durante uma semana do estágio, houve troca de estagiários com a CUF Infante Santo de modo a podermos viver a experiência dos serviços farmacêuticos de outro hospital. Embora os serviços da CUF Infante Santo sejam mais pequenos, há uma dinâmica de trabalho diferente, os farmacêuticos têm um papel de gestão do medicamento mais ativo e surgem casos clínicos diferentes, tendo sido proveitoso ter uma perspetiva diferente embora dentro do mesmo grupo hospitalar.

## 2.2. PONTOS FRACOS

### 2.2.1. Demasiados Estagiários

O HCD possui serviços farmacêuticos muito pequenos. A existência de quatro estagiárias em instalações desta dimensão, com uma equipa também ela pequena e sobrecarregada, foi sem dúvida um ponto fraco do estágio, pois não pudemos receber o acompanhamento devido nem havia tarefas suficientes para todas, recaindo muitas vezes o nosso trabalho sobre tarefas de escritório como digitalizar papéis, organizar dossiers, desagrar documentos ou organizar outros documentos por ordem cronológica.

### 2.2.2. Equipa Reduzida

Como referi, o HCD tem uma grande produção de citotóxicos e de preparações não estéreis e estéreis, para além de que os seus farmacêuticos se preocupam em nunca descurar os seus deveres ao fazer validação de prescrições, fazendo-o com ponderação e, portanto, com elevado gasto de tempo.

Com todas estas tarefas, além das de gestão, os farmacêuticos não têm tempo, de modo algum, para dar apoio ou sequer acolher os estagiários.

### 2.2.3. Ausência de contacto com os doentes

Embora participem nas reuniões clínicas semanais, os farmacêuticos, devido à sobrecarga de trabalho que surge da escassez de recursos humanos, não têm oportunidade para contactar com os doentes, não sendo possível meter em prática funções que seriam uma mais valia para o doente e para a valorização da profissão de farmacêutico, como seria o caso da execução de aconselhamentos terapêuticos e de adesão à terapêutica ou da conciliação da terapêutica.

Além disto, no HCD não existe dispensa de medicamentos em ambulatório, o que teria sido uma mais valia para aprender sobre o aconselhamento de doenças e medicações que apenas surgem em meio hospitalar.

### 2.2.4. Pouco contacto com as tarefas do farmacêutico hospitalar

Entre o tempo gasto a desblisterar comprimidos e a fazer tarefas de escritório, para além de se prepararem manipulados e assistir um pouco à validação das prescrições, muitas foram as funções do farmacêutico hospitalar com as quais eu esperava ter contacto e aprender mais sobre e que não experienciámos. Não houve contacto com a farmacocinética, com os ensaios clínicos nem com a dispensa de medicamentos em ambulatório embora esta última tenha sido a razão para irmos para a CUF Infante Santo que, por falta de comunicação entre

os serviços, já deixou de executar a dispensa em ambulatório e o HCD não tinha conhecimento.

### 2.2.5. Falta de Conhecimentos Clínicos

A falta de formação na área da fisiopatologia foi claramente evidente durante todo o período de estágio e mostrou-se um grande desafio, pois impedia que fôssemos inteiramente capazes de acompanhar a validação das prescrições e exigiu que passássemos muito tempo a estudar coisas que deveriam fazer já parte dos nossos conhecimentos.

## 2.3. OPORTUNIDADES

### 2.3.1. Reuniões Clínicas

O HCD executa, semanalmente e em cada enfermaria, uma reunião clínica que envolve médicos, enfermeiros e farmacêuticos. Esta é uma excelente oportunidade para os farmacêuticos se imporem como membros ativos das equipas médicas que acompanham os doentes e para terem um papel mais próximo dos mesmos, visto que atualmente têm um papel mais de espectadores nas ditas reuniões.

## 2.4. AMEAÇAS

### 2.4.2. Falta de acesso à medicação feita no domicílio

Tratando-se de um grupo hospitalar privado, uma das funções dos farmacêuticos é fazerem os orçamentos correspondentes às despesas com a medicação de cada doente. Como tal, o software utilizado não discrimina a medicação que o doente faz em casa e isto acontece não só para fins de faturação, mas também quando se acede à ficha clínica para fazer a validação das prescrições. Este facto pode dar azo a erros de prescrição e a interações medicamentosas, além de que impede os farmacêuticos de executar a sua validação de forma correta, impedindo também a execução da reconciliação da medicação.

### **3. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Finalizando 2 meses de estágio no Hospital CUF Descobertas, consegui obter uma visão mais esclarecida das funções de um farmacêutico hospitalar, deixando-me o desejo de conhecer as realidades de outros hospitais, nomeadamente hospitais públicos, de maiores dimensões e com serviços com os quais não pude contactar, como a dispensa de medicamentos em ambulatório.

O incentivo que nos foi dado ao longo de todo o período de estágio no sentido de nunca nos deixarmos de interessar pela profissão e pela atualização dos nossos conhecimentos é, sem dúvida, uma mais valia que irei guardar para a vida e, a meu ver, os farmacêuticos deverão sempre lutar por um papel mais ativo dentro dos hospitais, pois são os profissionais mais habilitados para prevenir erros de medicação e de duplicação da medicação, sendo o seu papel importante para não só promover um uso mais adequado do medicamento como, também, para promover um uso economicamente mais responsável do mesmo.

Deste estágio, saio com um maior respeito pelo trabalho que os colegas de hospitalar desenvolvem e com a noção de que o seu trabalho pode, de facto, ser muito mais valorizado.

## **FONTES BIBLIOGRÁFICAS**

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **Competências Farmacêuticas**. [Consultado a 29 de agosto de 2018] Disponível em: [https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/fh\\_2046040655595bc9e9e089d.pdf](https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/fh_2046040655595bc9e9e089d.pdf)

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **Manual das Boas Práticas de Farmácia Hospitalar**. [Consultado a 29 de agosto de 2018] Disponível na internet: <https://ordemfarmaceuticos.pt/pt/>

JOSÉ DE MELLO SAÚDE – **Missão, Visão e Valores**. [Consultado a 29 de agosto de 2018] Disponível em: <https://www.saudecuf.pt/unidades/descobertas/centros/servicos-farmaceuticos/missao-visao-e-valores>





PARTE II– RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM  
FARMÁCIA COMUNITÁRIA

## **Lista de Abreviaturas**

IMC – Índice de Massa Corporal

MNSRM – Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

SNS – Serviço Nacional de Saúde

## I. INTRODUÇÃO

O relatório seguinte foi elaborado de acordo com a unidade curricular “Estágio Curricular” após estágio na Farmácia São Sebastião, em Coimbra, sob orientação da Dr.<sup>a</sup> Cidália Roxo.

Fazendo alusão ao dever geral do Farmacêutico postulado no artigo 9º do Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos, o farmacêutico é “um agente de saúde, cumprindo-lhe executar todas as tarefas que ao medicamento concernem, todas as (...) suscetíveis de contribuir para a salvaguarda da saúde pública e todas as ações de educação dirigidas à comunidade no âmbito da promoção da saúde.”. E em que outra situação este dever é mais posto em prática que na farmácia comunitária? Na farmácia comunitária, o farmacêutico tem uma posição de proximidade com a população, sendo uma personagem vital para não só garantir os pilares preconizados no Serviço Nacional da Saúde (SNS) – acessibilidade ao medicamento e equidade na prestação de cuidados de saúde de qualidade, independentemente da localização geográfica - (Ordem Farmacêuticos), como também para detetar e prevenir situações de doença ou complicações, bem como promover estilos de vida saudáveis. Fazendo alusão às palavras de uma utente da Farmácia São Sebastião, “as Dr.<sup>as</sup> conhecem-nos há anos, conversam connosco e conhecem o nosso historial, sentimo-nos à vontade para tirar as nossas dúvidas convosco”, afirmações que refletem claramente a relação farmacêutico-utente que deve subsistir em todas as farmácias e que permite executar os nossos deveres de forma exemplar.

Seguindo um modelo de análise SWOT, o relatório será um meio de avaliação introspetiva, abordando os pontos fortes (*strenghts*), pontos fracos (*weaknesses*), oportunidades (*opportunities*) e ameaças (*threats*) que foram surgindo durante o período de 4 meses em que o estágio decorreu.

## **2. ANÁLISE SWOT**

### 2.1. PONTOS FORTES

#### 2.1.1. Valorização do Utente

Na Farmácia São Sebastião, valoriza-se em primeiro lugar o bem-estar do utente e o seu aconselhamento. Com as dificuldades que se impuseram sobre as farmácias nos últimos anos, em muitas se observa que os deveres e funções dos farmacêuticos enquanto prestadores de cuidados de saúde foram um tanto ou quanto obliterados pelos deveres económicos. O facto de na farmácia São Sebastião se continuar a priorizar o bem-estar do utente em primeiro lugar, reflete-se na confiança que os utentes depositam nos farmacêuticos e que permite que as nossas funções sejam executadas da forma mais ética e profissional.

Com isto, a minha aprendizagem foi muito mais enriquecedora, pois o aconselhamento é a primeira preocupação, em detrimento das vendas, o que permitiu que os meus conhecimentos aumentassem significativamente em relação a uma variedade de questões do dia-a-dia – e outras menos comuns – de uma farmácia comunitária.

#### 2.1.2. Preparação de Medicamentos Manipulados

A preparação oficial de substâncias medicamentosas na farmácia acompanha as funções de um farmacêutico desde os primórdios da profissão, altura em que estes profissionais eram conhecidos como boticários (Ordem Farmacêuticos). Embora já não seja um trabalho efetuado em todas as farmácias, a meu ver, é um trabalho que valoriza o farmacêutico enquanto conhecedor e pessoa competente para manipular matérias-primas e substâncias medicamentosas.

Apesar de, a nível prático, a minha intervenção na preparação de manipulados ter sido escassa, beneficiei bastante com a existência da atividade na farmácia na medida em que me pude familiarizar com todos os passos necessários para a execução da referida: desde a receção e controlo das matérias-primas, ao processamento de receitas de manipulados, cálculo de honorários, rotulagem, comparticipação, faturação e arquivação das informações relativas ao produto final. Foi-me ainda possível aprender sobre dadas doenças e respetivos aconselhamentos e tratamentos, temas que na faculdade não foram abordados, tais como a escabiose, pois a dispensa de manipulados requer um aconselhamento cuidadoso do doente quanto à execução do tratamento.

### 2.1.3. Elevada Quantidade de Receituário

Sendo uma farmácia cuja população alvo é maioritariamente sénior e não sendo uma farmácia de passagem, o receituário corresponde ao grosso das vendas, o que claramente permitiu que pudesse consolidar e completar os conhecimentos adquiridos durante o curso e principalmente a capacidade de aconselhamento adequado a cada tipo de utente.

### 2.1.4. Formações

Durante o período de estágio, tive a oportunidade de frequentar formações oferecidas pelas marcas. Estas formações, embora se destinem a dar a conhecer determinados produtos, abordam temas pertinentes, temas comuns no dia-a-dia da farmácia, e para os quais não estamos inteiramente preparados quando ingressamos no estágio, e que exigem conhecimento dos produtos. Temas como doenças oculares – saber avaliar as situações de risco e saber quando aconselhar e quando referenciar para o médico –, desparasitação animal ou proteção solar.

A frequência destas formações ofereceu-me mais bagagem para poder executar os meus aconselhamentos de forma segura e correta.

### 2.1.5. Determinação de Parâmetros Bioquímicos e Outras Determinações

Poder desempenhar ações desta índole na farmácia, não só é gratificante, na medida em que permite que a população nos reconheça ainda mais como prestadores de cuidados de saúde, como é um modo excelente de podermos monitorizar e aconselhar a adesão do utente à sua terapêutica: um dos deveres do farmacêutico que tem grandes repercussões na manutenção da saúde pública. Ao fazer determinações de glicémia, de pressão arterial, de colesterol ou do índice de massa corporal (IMC), surge a oportunidade de conversar com o utente, tentando entender o seu estilo de vida, e de ter uma atitude interventiva no sentido de tentar corrigir certos erros e de detetar possíveis situações de risco ou situações que exijam intervenção do médico. Isto demonstra o papel que o farmacêutico tem na comunidade: um papel de proximidade e confiança, sendo a primeira linha em muitas situações.

### 2.1.6. Dermocosmética Dirigida para Peles Sensíveis

A principal existência de produtos de cosmética na farmácia São Sebastião diz respeito a produtos dirigidos para peles sensíveis, facto que me permitiu adquirir conhecimentos sobre os cuidados a ter e os produtos mais indicados em peles atópicas, secas, com rosácea e psoríase, para além de ter aprendido a identificar estes tipos de pele.

## 2.2. PONTOS FRACOS

### 2.2.1. Pouca Puericultura

Como já referido, a maioria dos utentes da farmácia São Sebastião são pessoas acima dos 40 anos, não havendo grande procura por produtos de puericultura, uma área que é pouco abordada durante a nossa formação na faculdade e pelo que esperava poder familiarizar-me com ela durante o meu estágio em farmácia comunitária.

Considero que este possa vir a ser um ponto fraco na minha formação, pois será muito provável que me depare, no meu futuro profissional, com a necessidade de trabalhar com estes produtos.

### 2.2.2. Pouca Cosmética

Mais uma vez, o estágio confere a oportunidade de solidificar e colmatar deficiências dos conhecimentos adquiridos durante o curso, preparando-nos para o mundo do trabalho. Como tal, tendo em conta que a nossa formação a nível de cosmética é bastante limitada, considero que se a farmácia tivesse mais oferta nesta área, situação que não ocorre devido ao perfil de consumo dos utentes, embora de início se representasse como um grande desafio para mim, teria sido uma mais valia na medida em que me forçaria a aprender mais sobre as várias marcas, gamas e indicações e a aconselhar nas mais diversas situações, situações comuns no dia-a-dia de muitas farmácias, como a acne.

### 2.2.3. Aconselhamento de Produtos de Veterinária

Este ponto foi, sem dúvida, uma das minhas maiores dificuldades durante o estágio. A nossa formação a nível de produtos de veterinária é muita escassa e, neste caso, foi-me uma mais valia a formação que tivemos por parte de uma veterinária pertencente à Bayer, que nos informou sobre a desparasitação interna e externa de cães e gatos, e o apoio que os colegas da Farmácia São Sebastião me prestaram, estando sempre prontos a esclarecer-me dúvidas e a ajudar-me no atendimento.

## 2.3. OPORTUNIDADES

### 2.3.1. Familiarização com os Utes

Não sendo uma farmácia de passagem, a São Sebastião tem a vantagem de ter uma relação próxima com os seus utentes e isto, ao cultivar confiança por parte do utente no farmacêutico, permite que os serviços da farmácia sejam alargados, sendo não só possível fazer melhores aconselhamentos e recomendações de produtos, o que se pode refletir nas vendas,

como também permite experimentar novos serviços. É exemplo disto os aconselhamentos nutricionais ou consultas farmacêuticas que se têm tentado implementar.

### 2.3.2. Dermatologia

Foi-me possível constatar que o número de casos de afeções dermatológicas que chegam à farmácia é elevadíssimo, talvez pela dificuldade ou barreira monetária que existe em consultar um dermatologista. A meu ver, esta é uma oportunidade a considerar na nossa educação. Uma formação maior relativamente aos problemas dermatológicos mais comuns e aconselhamentos e terapias a serem oferecidos nas farmácias pode representar uma futura vantagem para os farmacêuticos. A capacidade de aconselhar o utente de forma confiante, possibilitada por uma formação prévia e adequada, reforçaria o valor do nosso papel e iria permitir que, de forma mais eficaz, a farmácia cumprisse o seu papel de deteção e prevenção de situações agravadas.

### 2.3.3. Elevada Procura de Vitaminas e Suplementos

Envergando por uma perspetiva mais económica que, pelas dificuldades impostas às farmácias, não pode ser descurada embora também não possa ser sobreposta aos nossos deveres enquanto prestadores de saúde, o desejo que a população atualmente mostra por vitaminas e suplementos que aumentem a qualidade de vida é, sem sombra de dúvida, algo do qual se tem de tirar partido. Para este efeito, considero que, mais uma vez, é aqui que a nossa formação nos pode conferir vantagens em relação a locais de venda de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM).

Embora o último ano do curso já tente, de certo modo, direcionar um pouco mais os nossos conhecimentos para o aconselhamento farmacêutico, considero que seja realmente importante melhorar as nossas capacidades a nível de aconselhamento de suplementos e de medicamentos de venda livre, melhorando os conhecimentos a nível de nutrição e de suplementos alimentares – o que acredito que vá já melhorar com as novas alterações curriculares –.

### 2.3.4. Locais de Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

Não ignorando o facto de terem vindo representar uma grande ameaça para as farmácias comunitárias, a existência de competitividade de mercado obrigou as farmácias a evoluir e a tentarem destacar-se pela positiva: com o surgimento dos locais de venda de MNSRM, a relação das farmácias com a comunidade teve de se fortalecer ainda mais e o desenvolvimento de atividades para além da venda de medicamentos permite que as farmácias não sejam vistas como um minimercado, desafiando os farmacêuticos a destacarem-se pela

sua formação e a afirmarem-se como profissionais de saúde ao mesmo tempo que lutam por aumentar e afirmar o seu papel no sistema nacional de saúde.

## 2.4. AMEAÇAS

### 2.4.1. Desacreditação do Farmacêutico

Esta, felizmente, não é uma realidade muito comum na farmácia São Sebastião. Contudo, é notório que o devido valor nem sempre é dado ao farmacêutico por parte da população. Este facto deve-se não só à venda de medicamentos em locais que não farmácias, o que contribui para a banalização dos mesmos, constituindo um perigo de saúde pública *per si*, mas também à inércia que muitos colegas mostram ter e à falta de ética de muitos.

Também a banalização do medicamento e da sua dispensa constitui uma ameaça para a profissão do farmacêutico, agente do medicamento, pois só tendo a população a consciência de que nenhum medicamento é 100% livre de contraindicações e que o nosso papel é, acima de tudo, assegurar o uso correto e seguro dos medicamentos, poderá aceitar as nossas indicações e preferir as farmácias em detrimento de outros locais.

Com isto em conta, ressalto mais uma vez o profissionalismo dos farmacêuticos da farmácia São Sebastião.

### 2.4.2. Locais de Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

Embora tenha referido as oportunidades que estes locais conferem a nível de evolução da Profissão, não se pode, de maneira alguma, ignorar a ameaça que representam para as farmácias comunitárias. As dimensões que os grandes grupos de locais de venda de MNSRM como os associados a cadeias de supermercados possuem, permite-lhes obter uma competitividade de mercado muito grande, com a qual as farmácias dificilmente conseguem competir, mesmo recorrendo a cooperativas.

É neste sentido, mais que nunca, que as estratégias de fidelização dos utentes são importantes. As farmácias não podem competir pelo lado monetário, sendo imperativo que no seu dia-a-dia retirem o máximo partido das competências das suas equipas.



### **3. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O período de 4 meses de estágio na Farmácia São Sebastião não poderia ter estado mais ao nível das minhas expectativas. Embora tenham existido momentos de insegurança, estive rodeada de uma equipa impecável, extremamente competente, que me fizeram acreditar que iria sair do estágio como uma profissional capaz, que tem o utente como principal preocupação.

Considero que termino o estágio não só como uma melhor profissional, mas também como melhor pessoa. As funções do farmacêutico comunitário são das mais importantes e gratificantes na área farmacêutica quando executadas de forma humana e competente. O farmacêutico comunitário tem a proximidade e conhecimentos necessários para melhorar as condições de vida da comunidade e ter podido testemunhar isso em primeira mão, foi realmente enriquecedor.

Se, no início do curso, achava que farmácia comunitária seria o ramo menos gratificante e importante da área farmacêutica, o estágio na Farmácia São Sebastião serviu para mostrar completamente o oposto. A gratidão de um utente só, oferece um sentimento enorme de missão cumprida.

## **FONTES BIBLIOGRÁFICAS**

ASSOCIAÇÃO PROTETORA DOS DIABÉTICOS DE PORTUGAL. Portal da Diabetes – **Tratar a Hipoglicémia**. Lisboa: APDP. [Consultado a 16 de agosto de 2018] Disponível na internet: <https://www.apdp.pt/diabetes/tratamento/urgencias-hospitalares>.

INFARMED, IP – **Portaria 594/2004 – Boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados**. [Consultado a 15 de agosto de 2018] Disponível na internet: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/inspecao/inspecao-medicamentos/medicamentos-manipulados>

ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos**. [Consultado a 15 de agosto de 2018] Disponível na internet: <https://ordemfarmaceuticos.pt/pt/>

PORTUGAL. Direção-Geral da Saúde – **Abordagem Terapêutica Farmacológica na Diabetes Mellitus Tipo 2 no Adulto**. Lisboa: DGS, 2015. [Consultado a 16 de agosto de 2018] Disponível na internet: <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas.aspx>

# **ANEXOS**

## CASO CLÍNICO

A senhora “Maria” chegou à farmácia a pedir metformina. Durante a conversa, referiu que tem tido várias hipoglicémias – só naquela manhã tinham sido 3 – e que decidiu ir buscar a metformina porque há 2 anos – altura em que deixou de tomar todas as suas medicações – tomava e os diabetes andavam controlados.

Com esta informação, tentei entender mais sobre os hábitos da senhora. Pelo que me referiu, era uma senhora que morava sozinha e não tinha horários: deitava-se tanto cedo como tarde e dormia até muito tarde. Por vezes, antes de se deitar, comia, mas só se tivesse fome, à semelhança das restantes refeições do dia. Tanto podia passar grandes períodos de jejum, como comer compulsivamente e comer coisas como aletria ao jantar e sopa ao lanche. No último episódio de hipoglicémia (às 11h da manhã), a título de exemplo, disse que tinha comido açúcar, seguido de um prato de sopa e dois pratos de aletria.

Refiro este caso não pelo aconselhamento farmacológico em si, que neste caso foi apenas no sentido de fazer a senhora entender que a medicação crónica não pode ser deixada por motivação própria e que também não pode ser iniciada sem indicação médica, para além de que a metformina atua no sentido de reduzir as hiperglicemias e não iria resolver a sua situação, mas por ser reflexo do papel ativo do farmacêutico. Neste caso, tive de tentar alertar a senhora para a importância de alterar os seus hábitos de vida, referindo primeiro as consequências de uma hipoglicemia e os perigos associados, principalmente, para uma pessoa que vive sozinha, após o que aconselhei a lidar com a hipoglicémia: não havendo necessidade de ingerir demasiado açúcar, podendo recorrer a sumos, e posteriormente ingerir hidratos de carbono de lenta absorção, tendo de ter em atenção que a glicémia não subiria a pique de imediato. De seguida, dei aconselhamento no sentido de prevenir as hipoglicémias: fazer refeições equilibradas e nunca estar mais de 3 horas sem comer. Comer um iogurte e uma bolacha maria, por exemplo, antes de ir dormir, e evitar passar tanto tempo a dormir e sem comer nada.

Por fim, referindo mais uma vez que a automedicação não é a solução, recomendei a ida ao médico de família para que pudesse realizar análises e dar início à terapêutica devidamente ajustada.

## FOLHA DE REGISTO DE MOVIMENTO DE MATÉRIAS-PRIMAS

Carimbo da Farmácia

Matéria-Prima nº
Localização no Armazém:

### REGISTO DE MOVIMENTO DE MATÉRIAS-PRIMAS

MATÉRIA-PRIMA: \_\_\_\_\_

OUTRAS DESIGNAÇÕES: \_\_\_\_\_

FORNECEDOR: \_\_\_\_\_ ORIGEM: \_\_\_\_\_

FACTURA Nº/DATA: \_\_\_\_\_ DATA DA RECEPÇÃO: \_\_\_\_\_

LOTE Nº: \_\_\_\_\_ VALIDADE: \_\_\_\_\_

QUANTIDADE RECEBIDA: \_\_\_\_\_ Nº DE CONTENTORES RECEBIDOS: \_\_\_\_\_

CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS: Boletim de Análise nº \_\_\_\_\_ (em anexo)

Medicamento Manipulado (Lote nº)	Data	Quantidade Usada	Quebras	Quantidade em Armazém	Operador

\* assinalar "fornecimento por grosso" quando for o caso

## EXEMPLO DE FICHA DE PREPARAÇÃO DE MANIPULADO



### FICHA DE PREPARAÇÃO

Medicamento: \_\_\_\_\_

Teor em Substância(s) Activa(s): 100g (ml ou unidades) contém \_\_\_\_\_ g (ml) de \_\_\_\_\_

Forma Farmacéutica: \_\_\_\_\_

Data de Preparação: \_\_\_\_\_

Lote n.º: \_\_\_\_\_

Quantidade a preparar: \_\_\_\_\_

Matérias-primas	Lote n.º	Origem	Farmacopeia	Quantidade para 100g (ml ou unidades)	Quantidade calculada	Quantidade pesada	Rubrica do operador e data	Rubrica do supervisor data

Preparação

Rubrica do Operador

1.	
2.	
3.	
4.	
5.	
6.	
7.	

Rubrica do Director Técnico	Data
-----------------------------	------

8.	
9.	
10.	
11.	
12.	
13.	
14.	
15.	
16.	

Aparelhagem usada:

*Embalagem*

Tipo de embalagem: \_\_\_\_\_

Capacidade do recipiente: \_\_\_\_\_

Material de embalagem	Nº de lote	Origem

Operador: \_\_\_\_\_

Rubrica do Director Técnico	Data
-----------------------------	------

*Prazo de utilização e Condições de conservação*

Prazo de utilização	Operador: _____
Condições de conservação	Operador: _____

*Rotulação*

<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Proceder à elaboração do rótulo de acordo com o modelo descrito em seguida.</li> <li>2. Anexar a esta ficha de preparação uma cópia, rubricada e datada, do rótulo da embalagem dispensada.</li> </ol>	
<b>Modelo de rótulo</b>	
Identificação da Farmácia Identificação do Director Técnico Endereço e telefone da Farmácia	Identificação do Médico Prescritor Identificação do Doente
<b>Denominação do Medicamento</b>	
Teor em substância(s) activa(s) Quantidade dispensada Referência a matérias-primas cujo conhecimento seja eventualmente necessário para a utilização conveniente do medicamento Posologia Via de administração	Data da preparação Prazo de utilização Condições de conservação N.º do lote Manter fora do alcance das crianças Advertências (precauções de manuseamento, etc.) Uso externo (caso se aplique) (em fundo vermelho)
Operador: _____	

Rubrica do Director Técnico	Data
-----------------------------	------



*Verificação*

ENSAIO	ESPECIFICAÇÃO	RESULTADO	RUBRICA DO OPERADOR

Aprovado  Rejeitado

Supervisor: \_\_\_\_\_ \_/ \_/ \_

*Nome e morada do doente*

*Nome do prescriptor*

*Anotações*

Rubrica do Director Técnico	Data
-----------------------------	------

Calculo do preço de venda

MATERIAS-PRIMAS:							
Materias-primas	embalagem existente em armazém		preço de aquisição de uma dada quantidade (e/IVA)		quantidade a usar	factor multiplicativo	valor da matéria prima utilizada na preparação
	quantidade adquirida	preço de aquisição (e/IVA)	quantidade unitária	preço			
					X	X	=
					X	X	=
					X	X	=
					X	X	=
					X	X	=
					X	X	=
					X	X	=
					X	X	=
<b>SUBTOTAL A</b>							

HONORÁRIOS DE MANIPULAÇÃO:					
	forma farmacéutica	quantidade	F(%)	factor multiplicativo	valor
valor referente à quantidade base				X	=
valor adicional			X	X	=
<b>SUBTOTAL B</b>					

MATERIAL DE EMBALAGEM:				
materiais de embalagem	preço de aquisição (e/IVA)	quantidade	factor multiplicativo	valor
		X	X 1.2	=
		X	X 1.2	=
		X	X 1.2	=
		X	X 1.2	=
<b>SUBTOTAL C</b>				

<b>PREÇO DE VENDA AO PÚBLICO DO MEDICAMENTO MANIPULADO:</b>	(A+B+C) x 1.3 + IVA	
	<b>D</b>	

DISPOSITIVOS AUXILIARES DE ADMINISTRAÇÃO			
dispositivo	preço unitário	quantidade	valor

**E**


**PREÇO FINAL D + E**


Operador: \_\_\_\_\_

Supervisor: \_\_\_\_\_

Rubrica do Director Técnico	Data
-----------------------------	------

## EXEMPLO DE RÓTULO DE UM MANIPULADO

 <p>Farmácia São Sebastião</p> <p>Propriedade e Direcção Técnica de Ana Cristina Pimentel Av. Elísio de Moura, 443 3030-183</p>	Lote: 210818a	Data Prep: 21/08/20
	<b>CÁPSULAS DE DAPSONA</b>	
Dapsona ..... 50 mg		
Excipiente ..... qbp. 1 cápsula		
<b>Manter fora do alcance das crianças</b> Quantidade: 45 cápsulas		
Utente: X		Médico: Dr. Y
Conservar em local fresco e seco, em recipiente bem fechado		
		Validade: 21/12/20

 <p>Farmácia São Sebastião</p> <p>Propriedade e Direcção Técnica de Ana Cristina Pimentel Av. Elísio de Moura, 443 3030-183</p>	Lote:	Data Prep: 21/08/20
	<b>CÁPSULAS DE DAPSONA</b>	
Dapsona ..... 50 mg		
Excipiente ..... qbp. 1 cápsula		
<b>Manter fora do alcance das crianças</b> Quantidade: 45 cápsulas		
Utente: X		Médico: Dr. Y
Conservar em local fresco e seco, em recipiente bem fechado		
		Validade: 21/12/20



PARTE III – MONOGRAFIA: Desafios da  
Imunoterapia no Tratamento do  
Adenocarcinoma Pulmonar

## Lista de Abreviaturas

- ALK – Anaplastic lymphoma kinase
- APC – Célula Apresentadora de Antígenos
- BsAb – Anticorpos bi-específicos
- BP – Benzo(a)pireno
- BPDE – Benzo(a)pireno diol epóxido
- c-MET – Cellular-mesenchymal to epithelial transition factor
- CT – Tomografia computadorizada
- CTLA – 4 – Antígeno 4 associado aos linfócitos
- CYP – Citocromo P450
- DNA – Ácido Desoxirribonucleico
- EGFR – Recetor do Fator de Crescimento Epidérmico
- EML-4 – Echinoderm microtubule-associated protein-like 4
- ERK1/2 – Cinase 1/2 regulada por sinais extracelulares
- FDA – Food and Drug Administration
- IC – Inibidores de Checkpoint
- IL-2 – Interleucina 2
- ImmTAC – Immune-mobilizing T cell Receptor
- iT<sub>Reg</sub> – Células T reguladoras induzidas
- INF- $\gamma$  – Interferão Gama
- MAPK – Mitogen Activated Protein Kinase
- MHC – Complexo Major de Histocompatibilidade
- NCCN – National Comprehensive Cancer Network
- NNK – 4-(metilnitrosamina)-1-(3-piridil)-1-butanona
- NSCLC – Carcinoma de Células Não Pequenas

PET – Tomografia por Emissão de Positrões

PHA – Hidrocarboneto Aromático Policíclico

QT – Quimioterapia

sPD-I – PD-I solúvel

TKI – Inibidor da tirosina cinase

UE – União Europeia

VacAbs – Anticorpos induzidos por vacinação

## RESUMO

O adenocarcinoma pulmonar é um tipo subtipo de cancro do pulmão de células não pequenas que ocorre nas células que revestem os alvéolos e possui uma maior frequência em não fumadores, e tendo uma evolução muito rápida e uma taxa de mortalidade elevada. O uso de terapias convencionais como a quimioterapia e a radioterapia apenas se revela eficaz em doentes em fases pouco avançadas da doença e, como tal, têm sido desenvolvidas terapias alternativas. Além dos inibidores da tirosina cinase, os esforços mais promissores têm sido postos na imunoterapia e na produção de agentes terapêuticos, como o nivolumab e o pembrolizumab (ambos já aprovados pela FDA), e vacinas capazes de estimular a resposta do sistema imunológico do doente contra as células tumorais. Contudo, estas terapias têm mostrado discrepância quanto à resposta expectável e a resposta realmente obtida, que fica aquém do esperado. Deste modo, o uso das imunoterapias exige novos indicadores de prognóstico e novas abordagens e combinações terapêuticas que permitam melhorar a resposta ao tratamento e que diminuam as recidivas e o surgimento de tumores resistentes.

Nesta monografia, abordam-se alguns dos principais problemas dos inibidores de checkpoint e da tirosina cinase, referindo-se possíveis estratégias para os ultrapassar.

**Palavras-chave:** Imunoterapia, cancro do pulmão de células não pequenas, adenocarcinoma pulmonar, inibidores checkpoint, vacinoterapia, inibidores da tirosina-cinase, gene *EGFR*, gene *KRAS*.

## ABSTRACT

Lung adenocarcinoma is an aggressive type of lung cancer most common in non-smokers and with high death rates. While conventional therapies like chemo- and radiotherapy are effective for non-advanced, non-metastatic lung cancers, for stage IV cancers, with metastasis, they don't suffice, which creates the necessity for new therapies. More than tyrosine kinase inhibitors, immunotherapies are being highly developed and studied, showing promising results for checkpoint inhibitors (of which nivolumab and pembrolizumab are already FDA approved) and immunostimulant vaccines, which are able to stimulate the patient's own immune system to combat tumor's cells. However, the results obtained in practice aren't as good as the one's from clinical trials. Hence, there's the need to research for better ways to predict one's response to the treatment and the need for new therapies and new combinations which can improve treatment response, overall survival and disease-free progression.

In the present report, I'll point out some of checkpoint inhibitor's and tyrosine kinase's challenges and some possible strategies to go around them.

**Keywords:** Immunotherapy, non-small cell lung cancer, lung adenocarcinoma, checkpoint inhibitors, vaccinotherapy, tyrosine kinase inhibitors, *EGFR* gene, *KRAS* gene.



## I. INTRODUÇÃO

Na União Europeia (UE), mais de um quarto da população (26,4%) morreu com cancro em 2014, fazendo do cancro a segunda principal causa de morte, apenas suplantada pelas doenças cardiovasculares (EuroStat, 2017). Deste número de mortes, 20,1% correspondem a mortes por cancro do pulmão, tornando-se o cancro com maior taxa de mortalidade na UE (EuroStat, 2018). Estes números elevados começaram a surgir durante o século XX, com o desenvolvimento da tecnologia e da popularidade do tabaco, altura em que começou a aumentar significativamente o número de mortes por cancro do pulmão, que ainda hoje se mantêm elevadas apesar de todos os avanços na medicina.

O **adenocarcinoma pulmonar**, é um subtipo de cancro do pulmão das células não pequenas (NSCLC), uma doença que corresponde a cerca de 40% dos casos totais de cancro do pulmão (SHTIVELMAN *et al.*, 2014) e, portanto, a aproximadamente 8% de todos os casos de cancro, e um dos tumores mais agressivos e de progressão mais rápida (DENISENKO *et al.*, 2018).

A resistência que o adenocarcinoma pulmonar demonstra face aos tratamentos convencionais de quimioterapia e de radioterapia conduziu à necessidade de procurar terapias com maior especificidade. O desenvolvimento da genómica e de testes de genética possibilitou avaliar o processo cancerígeno a um nível mais profundo, permitindo que o prognóstico e a adequação da terapêutica sejam feitos de modo mais personalizado e minucioso, tendo por base a deteção de determinados genes tumorais (KARASAKI *et al.*, 2017). O surgimento de terapêuticas mais específicas, por sua vez, confere a oportunidade de fazer uso de tratamentos menos agressivos que a quimioterapia, dado que esta possui um elevado número de efeitos secundários, com destaque para a mielossupressão (com anemia, neutropenia e trombocitopenia) (Dean & Kreis, 2017). Essas terapêuticas, contudo, embora nos ensaios tenham demonstrado resultados extraordinários, na prática apresentam resultados muito variáveis (KARASAKI *et al.*, 2017).

Esta monografia, aborda algumas destas terapêuticas e, principalmente, dá foco a alguns dos possíveis problemas responsáveis pela insuficiência de resultados favoráveis e a formas de os poder contornar, tendo por base a noção de que “terapias combinadas ultrapassam a resistência e são mais eficazes que o uso de fármacos que tenham como alvo apenas uma proteína ou via de sinalização específicas” (DENISENKO *et al.*, 2018).

## 2. CANCRO: UMA DOENÇA MUTACIONAL SOMÁTICA

A noção de que as neoplasias devem ser encaradas enquanto tecidos e que só podem ocorrer em seres multicelulares constitui um dos alicerces da Oncologia (AZEVEDO & SUNKEL, 2012). Uma neoplasia é consequência da capacidade de renovação das células dos tecidos do organismo. Por vezes, durante a divisão celular, podem ocorrer mutações genéticas ou epigenéticas que, conferindo propriedades seletivas à célula, permitem que a célula mutada cresça e se divida sem restrições, levando à destruição das células tecidulares em volta e à formação de um novo tecido: o neoplasma. É possível afirmar que o cancro, dependendo da existência de mutações somáticas, ou seja, mutações que alterem o DNA, transmissíveis de umas células para as outras, é uma doença genética, embora possam também ocorrer mutações epigenéticas (alterações hereditárias na estrutura da cromatina, que não afetam a sequência de DNA) de menor relevância para a patogénese (ALBERTS, 2015) (AZEVEDO & SUNKEL, 2012).

Mas serão as mutações suficientes para originar um cancro? Após ocorrer a mutação de DNA, a célula em questão precisa de ser capaz, não só de sobreviver, como também de adquirir vantagem (*growth advantage*) relativamente às células vizinhas de forma a causar uma expansão clonal. O cancro surge de uma acumulação progressiva e aleatória de mutações numa linhagem de células (ALBERTS, 2015) resultantes da sua instabilidade genética. Destas mutações, algumas são subprodutos acidentais e outras têm um papel crucial no desenrolar da doença: são as mutações que ocorrem nos *driver genes*, que podem ser proto-oncogenes ou genes supressores de tumores. Os genes supressores tumorais são genes que codificam proteínas que mantêm a homeostasia e as mutações nestes genes levam à perda de atividade. É exemplo comum em muitas neoplasias o silenciamento do *p53*, cuja via de sinalização é ativada em situações de stress ou alterações de DNA e está envolvida na paragem do ciclo celular para que se possa proceder à reparação do dano ou à apoptose. Os proto-oncogenes, ao serem ativados, originam oncogenes cuja função irá contribuir para a sobrevivência e progressão tumoral. É exemplo a reativação da enzima telomerase: a telomerase é silenciada durante o processo de diferenciação celular e deixa as células normais num estado de senescência replicativa, o que impede que se multipliquem descontroladamente. Ao ser reativada, permite às células cancerígenas efetuar uma larga expansão. Outro exemplo de mutação que permite que as células cancerígenas tenham uma fase de crescimento igualmente rápida é a alteração da via de sinalização PI3K/Akt/mTOR que deixa de precisar de proteínas extracelulares para ser ativada e cuja ativação aumenta a síntese proteica e o uso de glicose e

produção de AcetilCoA. O elevado ritmo de crescimento confere aos tecidos neoplásicos características metabólicas particulares como a existência de intensa glicólise anaeróbia (efeito de Warburg) (AZEVEDO & SUNKEL, 2012) (ALBERTS, 2015).

Havendo condições para a expansão clonal, que pode ser neoplásica, ocorrendo crescimento do neoplasma *in situ* com células semelhantes às normais, ou metaplásica, em que há substituição de um tipo de tecido por outro diferente (AZEVEDO & SUNKEL, 2012), dá-se início à progressão, que culmina na metastização. Inicialmente, como exemplificado na figura 1, ocorre a invasão local dos tecidos subjacentes com perda do gene da E-Caderina que é responsável por manter as células epiteliais coesas (ALBERTS, 2015). De seguida, como há elevada hipoxia decorrente do rápido crescimento do novo tecido e também há produção aumentada do fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), a marcada angiogénese permite que as células tumorais transitem pelo sangue ou linfa indo formar novas massas tumorais nos pulmões, fígado, medula óssea ou cérebro no primeiro caso, ou nos gânglios linfáticos, no segundo. É quando uma célula cancerígena adquire capacidade de invasão que se passa a referir a neoplasia como maligna. Nos novos locais, as células estarão sujeitas a diferentes pressões ambientais, sofrendo alterações que lhes irão conferir ainda mais heterogeneidade, ou seja, quanto mais tempo decorrer a evolução do cancro, maior será a sua variabilidade genética e mais difícil se torna arranjar um tratamento que o consiga eliminar totalmente (ALBERTS, 2015).

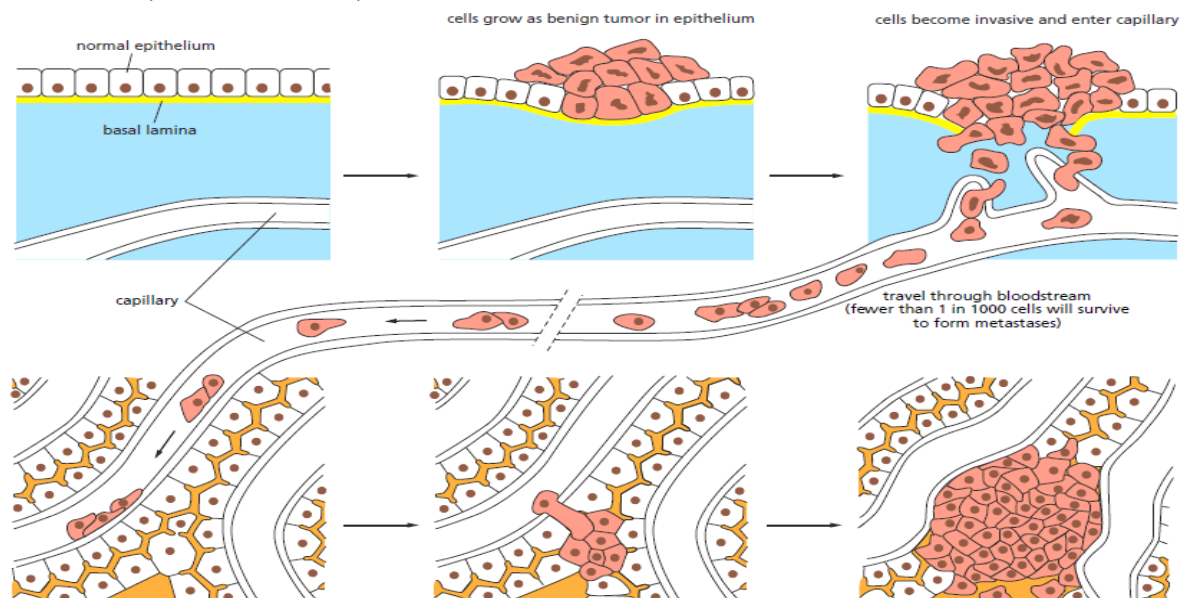


Figura 1. Processo de Metástase (adaptado de ALBERTS, 2015)

Como já referido, os tumores possuem características metabólicas particulares. Segundo Otto Warburg (1927), “enquanto a maioria das células normais morre se forem mantidas em glicólise anaeróbia, as células tumorais não só continuam a existir, como são

capazes de crescer indefinidamente com a energia química proveniente da glicólise.” Este fenómeno deve-se a alterações a nível do DNA mitocondrial, que afetam as enzimas do ciclo de Krebs e da fosforilação oxidativa, e não só permite às células tumorais sobreviver em condições adversas, como também lhes confere uma vantagem competitiva através da elevada produção de lactato que acidifica o meio envolvente, tornando-o adverso às células normais adjacentes e abrindo lugar para o crescimento tumoral e invasão (ALBERTS, 2015) (AZEVEDO & SUNKEL, 2012).

## 2.1. TIPOS DE NEOPLASIAS

De acordo com o tecido de origem, os cancros podem ser classificados como carcinomas, que são os mais comuns e surgem de células epiteliais, como sarcomas, insurgentes de tecido conectivo ou células musculares, ou como linfomas e leucemias, que são derivados de células hematopoiéticas. Os carcinomas, por sua vez, podem ser das células escamosas, que revestem as cavidades e têm ação protetora sobre as restantes, ou adenocarcinomas, que afetam as células com atividade secretora (ALBERTS, 2015).

## **3. CANCRO DO PULMÃO**

Atualmente, o cancro do pulmão tem maior incidência em homens – 74% superior às mulheres em 2014 – e, para pessoas acima dos 65 anos, a incidência é 13 vezes maior (EuroStat, 2017).

Embora existam vários tipos de cancro do pulmão, a demonstração de heterogeneidade histológica em todos eles, leva a crer, que a maioria surge de um só precursor ou célula estaminal (Weinberger, 2008) que sofre várias mutações e divisões celulares durante um longo período, no qual o doente não apresenta sintomas. A identificação de dadas mutações em cada cancro diagnosticado permite planear uma abordagem terapêutica mais personalizada, com eficácia aumentada e efeitos secundários diminuídos.

Os sintomas do cancro do pulmão são muito variáveis, podendo estar relacionados com a lesão primária, com o crescimento local, com o crescimento metastático ou, em alguns casos, com a produção ectópica de hormonas pelas células tumorais ou pela estimulação de auto-anticorpos (Dean & Kreis, 2017). Os sintomas mais comuns são hemoptise e tosse, sendo esta última muitas vezes descurada em tabagistas por associarem a complicações causadas pelo tabaco.

### 3.1. ETIOLOGIA

A carcinogénese está associada a fatores externos capazes de causar mutações somáticas, fatores esses que, mais que em qualquer outro cancro, têm sido bem identificados no cancro do pulmão. O principal fator responsável pelo surgimento do cancro do pulmão é o tabaco, responsável por mais de 85% dos casos, existindo também outros fatores genéticos e fatores associados à exposição ocupacional. (Weinberger, 2008).

#### 3.1.1. Tabagismo

O tabagismo, desde os anos 50, está indubitavelmente associado ao aumento do risco de desenvolvimento de cancro do pulmão.

O fumo de tabaco contém mais de 60 componentes com potencial carcinogénico, entre os quais os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), os hidrocarbonetos policíclicos, as aminas aromáticas e as nitrosaminas, com especial destaque para a benzo(a)pireno (BP) e a 4-(metilnitrosamina)-1-(3-piridil)-1-butanona (NNK), que têm capacidade de induzir danos no DNA e mutações nas células expostas ao fumo. No caso da BP, ou mais corretamente do seu metabolito benzo(a)pireno diol epóxido (BPDE), este danifica o gene p53. Estudos mais recentes atribuem a carcinogenicidade do fumo de tabaco não aos PAHs e nitrosaminas, que têm de ser metabolizados pelas enzimas CYP em metabolitos carcinogénicos, mas sim aos aldeídos que estão presentes em muito maior quantidade e que são capazes de, formar aductos com proteínas, impedir a ação das CYP – diminuindo a ativação dos PAHs e nitrosaminas – e de reduzir a capacidade de reparação do DNA (Weng *et al.*, 2018).

O risco associado ao tabagismo depende do grau de dependência de nicotina que pode estar associado ao seu metabolismo: um estudo realizado em Singapura mostrou que há uma relação entre a fraca capacidade de metabolização da nicotina pelo CYP2A6 e o menor risco de cancro do pulmão (Yuan *et al.*, 2017). Além disto, é também maior em mulheres que fumam, embora a taxa de sobrevivência em mulheres seja maior (Henschke *et al.*, 2006). Para fumadores que deixem de fumar, a redução do risco depende da idade em que deixam, sendo que quando o abandono ocorre a partir dos 40 anos de idade, o risco não reduz totalmente (Djurdjevic *et al.*, 2018)

### 3.1.2. Exposição Ocupacional

Estima-se que 5-20% dos casos de cancro do pulmão no Homem sejam atribuíveis a situações de exposição ocupacional (Warden *et al.*, 2018). Embora o amianto seja o caso mais referido, com maior risco de acordo com o número de anos de exposição e com o início da exposição, inúmeros outros carcinogéneos foram identificados em situações do dia-a-dia. É exemplo o Crómio IV, presente em várias indústrias como as de fabrico de tintas ou metais, reparações automóveis, fabrico de máquinas, entre outras, em que a idade de início de exposição tem maior influência do que o tempo (Yatera *et al.*, 2018) Outros exemplos são o benzeno, extensivamente utilizado como solvente ou reagente na produção de produtos farmacêuticos, plásticos, tintas e pesticidas e o seu derivado tolueno (Warden *et al.*), o arsénio o petróleo ou a poluição aérea.

Para a maioria destes carcinogéneos, o aumento de risco de cancro do pulmão surge com vários anos de exposição e é cumulativo com o uso de tabaco.

### 3.1.3. Fatores Genéticos

Vários estudos têm demonstrado que a predisposição genética tem grande significância no desenvolvimento de cancro do pulmão e que o risco de se vir a desenvolver cancro do pulmão em indivíduos que tenham parentes em primeiro grau com a doença é aproximadamente 50% mais elevado, sendo os fatores genéticos responsáveis por cerca de 8% dos casos de cancro do pulmão (KANWAL *et al.*, 2017). São variados os estudos que se destinam a detetar e caracterizar as mutações genéticas associadas a um aumento do risco de cancro do pulmão.

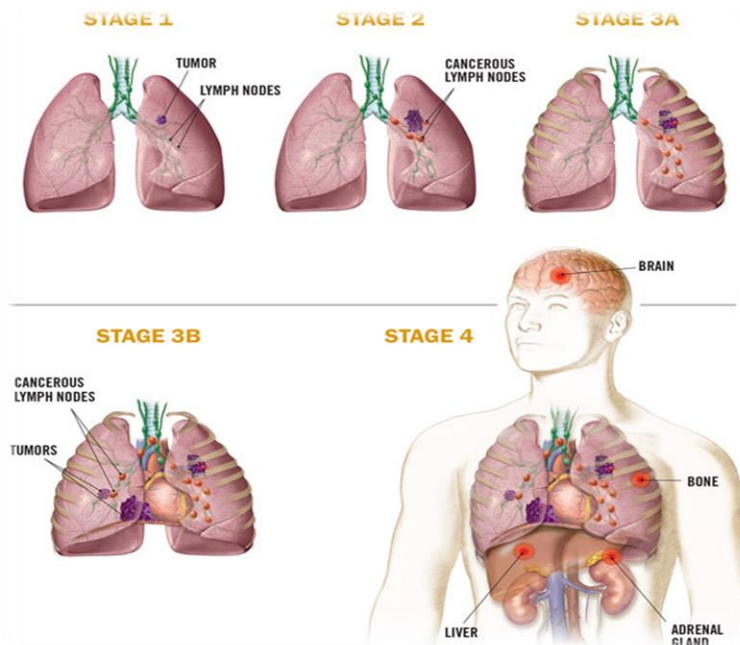
## 3.2. TIPOS HISTOLÓGICOS

Os diversos tipos de cancro do pulmão podem ser distinguidos de acordo com a sua histologia. Existem duas grandes categorias: o carcinoma de células não pequenas (considerado atualmente como um tumor neuroendócrino) e o carcinoma de células pequenas (SCLC). No grupo dos tumores de células não pequenas, inserem-se os adenocarcinomas, mais comuns em não fumadores, os carcinomas das células escamosas, comumente presentes em fumadores, e os carcinomas das células grandes. O carcinoma de células pequenas afeta quase exclusivamente fumadores e tem maior propensão para desenvolver metástases (Weinberger, 2008).

## 4. ADENOCARCINOMA PULMONAR

O adenocarcinoma é o tipo de cancro do pulmão mais comum em não fumadores e, também, o tipo histológico mais frequente, correspondendo a cerca de 40% de todos os casos (SHTIVELMAN *et al.*, 2014). Surge na periferia do pulmão, em células que revestem os alvéolos e, caracteristicamente, as suas células têm capacidade de produzir e secretar mucina (Weinberger, 2008).

De acordo com as recomendações efetuadas no 16º Congresso Mundial do Cancro do Pulmão (Denver, EUA, 2015), a abordagem terapêutica depende, entre outros fatores já



referidos, do estado pulmonar do doente e da fase em que o tumor se encontra à data do diagnóstico, podendo existir 4 fases distintas subdivididas de acordo com o tamanho do(s) nódulo(s) primário(s), como ilustrado na Figura 2, subdivisão esta cuja importância a nível terapêutico ainda é discutível e não será abordada nesta monografia.

Figura 2. Fases do Adenocarcinoma Pulmonar. Retirado de “Lung Overdue”, Cure Spring 2010

Na Fase I, o tumor está confinado aos pulmões, nas fases II/III há envolvimento dos nódulos linfáticos e na fase IV há metástases para além do pulmão ou sistema linfático (fígado, ossos, sistema nervoso central e glândulas adrenais) (Dean & Kreis, 2017) (POSTMUS *et al.*, 2017).

### 4.1. TERAPIA CONVENCIONAL

A escolha da abordagem terapêutica deve sempre ser feita por uma equipa médica e de acordo com a fase do tumor. Para tumores de fase IV, é necessário executar um diagnóstico molecular previamente à escolha do tratamento, que se mostra menos relevante para os tumores de fase I, II e III. Dado que as intervenções irão afetar as capacidades pulmonar e cardíaca do doente, em adição à avaliação do doente aquando do diagnóstico, é necessário avaliar o seu estado pós-intervenção e a qualidade de vida expectável (POSTMUS *et al.*, 2017).

#### 4.1.1. Tumores de Fases I, II e III

Em tumores de fases I, II e III, primeiramente, executam-se exames de tomografia de modo a excluir a existência de metástases e, *a posteriori*, o tratamento poder-se-á basear em cirurgia, quimioterapia, radioterapia ou numa combinação destes.

A **cirurgia** é a base da terapêutica do cancro do pulmão e pode até mesmo ser curativa em doentes com diagnóstico precoce (GAO *et al.*, 2017), sendo possível executar uma ressecção segmentar, quando a lesão é ainda localizada, ou uma lobectomia quando existem vários nódulos primários. A cirurgia, em casos de fase III, pode ser precedida por radioterapia com o objetivo de diminuir os nódulos (POSTMUS *et al.*, 2017) (Dean & Kreis, 2017).

Por sua vez, a **quimioterapia** é utilizada em doentes de fase II e III como terapia adjuvante após intervenção cirúrgica. É comum a administração de combinações de etoposídeo ou de um composto de platina, normalmente a cisplatina, com outro fármaco em 3 ou 4 ciclos de administração intravenosa, podendo-se utilizar docetaxel, gemcitabina ou pemetrexed. Estes regimes terapêuticos devem ser acompanhados de regimes de pré-medicação com vista a diminuir o impacto dos seus efeitos secundários mais comuns como a émise, neutropenia, anemia, trombocitopenia e rash cutâneo (Dean & Kreis, 2017) (POSTMUS *et al.*, 2017).

O uso de **radioterapia** é feito quando a intervenção cirúrgica não é possível. Os efeitos secundários são pouco comuns e a qualidade de vida do doente mantém-se, pelo que é comum recorrer a esta terapêutica em casos paliativos. Em determinados casos, pode ser administrada em pós-operatório após quimioterapia (POSTMUS *et al.*, 2017).

Em tumores de fase III avançados em que a cirurgia não é possível, deve-se efetuar quimioterapia baseada em cisplatina seguida de radioterapia (POSTMUS *et al.*, 2017).

#### 4.1.2. Tumores de Fase IV

Nos tumores de fase IV, atualmente, aquando do diagnóstico e após confirmação de metástases por tomografia, é recomendado executar testes moleculares para detetar a existência de mutações nos genes EGFR ou ALK que determinarão o uso de terapia personalizada ou não.

Em certos casos, a **radioterapia** poderá ter um papel importante no controlo dos sintomas e a **cirurgia** será opção em situações de complicações como abscessos ou compressão da medula espinal (NOVELLO *et al.*, 2016).



#### 4.1.2.1. Doentes ALK e EGFR Negativos

Em doentes que não apresentam mutações na cinase do linfoma anaplásico (ALK) e no recetor do fator de crescimento endotelial (EGFR), é recomendado o uso de **quimioterapia** com compostos de platina (cisplatina ou carboplatina) e com citotóxicos de terceira geração (paclitaxel, gemcitabina, docetaxel ou vinorelbina). Em doentes idosos com comorbilidades e incapazes de tolerar tratamento à base de platina, a prática é recorrer a quimioterapia baseada num só agente (vinorelbina, gemcitabina ou docetaxel) (NOVELLO *et al.*, 2016).

Quando se observa progressão da doença após a quimioterapia de primeira linha, deve-se iniciar o tratamento de segunda linha que consiste no tratamento com apenas um agente, podendo este ser um agente citotóxico ou um agente imunoterapêutico (NOVELLO *et al.*, 2016).

#### 4.1.2.2. Doentes ALK e EGFR Positivos

Os genes ALK e EGFR codificam recetores da tirosina cinase. Em doentes ALK e EGFR positivos, ou seja, com mutação nestes genes, idealmente, devem iniciar a terapêutica com inibidores da tirosina cinase (TKIs) direcionados para as proteínas mutadas ou vias de sinalização. Quando a deteção da mutação não é possível antes de dar início ao tratamento de quimioterapia com compostos de platina, dever-se-á utilizar os TKIs como terapêutica de manutenção, caso se tenha atingido o controlo da doença, ou de segunda linha, se continua a haver progressão da doença (NOVELLO *et al.*, 2016).

Estas terapêuticas serão abordadas no ponto seguinte.

## 4.2. ALTERAÇÕES EPIGENÉTICAS E ALVOS TERAPÊUTICOS

A mutação de proteínas de vias de sinalização celulares permite a proliferação celular descontrolada das células tumorais. Embora estas proteínas sejam de grande importância para a sobrevivência das células tumorais – mutações *driver* –, em vários estudos foi demonstrado que muitas não são relevantes para as células normais, tornando-se, assim, alvos terapêuticos interessantes.

Na sequência do diagnóstico, sempre que possível, está preconizado nas guidelines do National Comprehensive Cancer Network (NCCN) que deverão ser executados testes moleculares para detetar a existência de mutações EGFR ou rearranjos ALK e se poder adaptar a terapêutica, recorrendo a inibidores da tirosina cinase dos recetores/vias em questão que irão potenciar a ação da quimioterapia (NOVELLO *et al.*, 2016) (POSTMUS *et al.*, 2017). Além das mutações nos genes EGFR e ALK, mais mutações estão em estudo, mas ainda não

possuem terapêuticas aprovadas ou resultados significativos, embora esteja demonstrado que existem no NSCLC, como demonstrado na tabela abaixo (Tabela 1).

A presença destas alterações genéticas permite, atualmente, classificar dois subtipos geneticamente modificados de NSCLC (EGFR-mutados e com fusão ALK) suscetíveis ao uso de inibidores seletivos para as vias de sinalização afetadas como terapêutica de primeira linha, que em diversos estudos têm demonstrado melhor resposta ao tratamento e maiores períodos sem progressão de doença quando comparados com regimes de quimioterapia combinada (TU *et al.*, 2018) (GAO *et al.*, 2017).

Tabela 1. Principais alterações somáticas no Adenocarcinoma Pulmonar. Genes atualmente utilizados como alvo dos inibidores da tirosina cinase (EGFR e ALK) e possíveis alvos terapêuticos futuros (adaptado de SHTIVELMAN *et al.*, 2014)

Via de Sinalização	Gene	Frequência
RTK	<b>EGFR</b>	<b>20-30%</b>
	<b>ALK</b>	<b>3-13%</b>
	MET	5-20%
RAS	KRAS	30%
TP53	TP53	20-50%
RAF	BRAF	6%

#### 4.2.1. Mutação EGFR

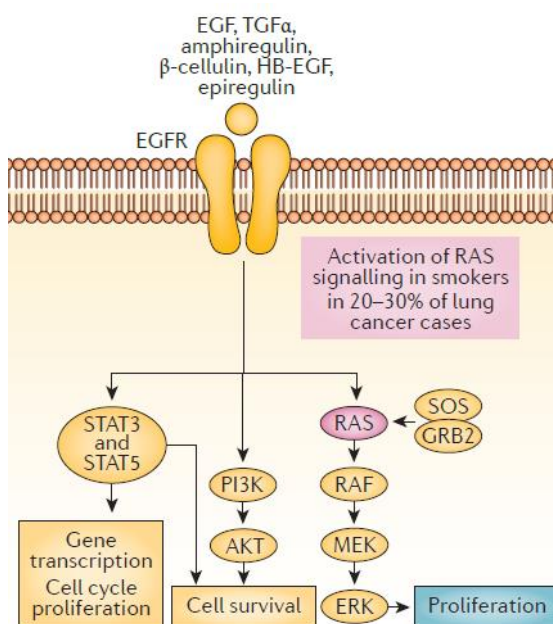


Figura 3 Ativação do EGFR. Adaptado de (GRIDELLI & *et al.*, 2015)

A mutação do recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), um recetor tirosina cinase transmembranar, resulta numa sobre ativação do recetor. A ativação do recetor leva à fosforilação da tirosina cinase (TK) que, por sua vez, desencadeia a resposta das vias de sinalização RAS/RAF/MAPK, PI3K/AKT e JAK/STAT, estimulando a mitose e a inibição da apoptose (Figura 3) (DENISENKO *et al.*, 2018).

A incidência de mutações EGFR é maior em fumadores, em mulheres, no adenocarcinoma e na população asiática (TU *et al.*, 2018) e doentes EGFR-positivos devem ser tratados com **gefitinib**,

**erlotinib** ou **afatinib** (fármacos inibidores da tirosina cinase). É comum ocorrer resistência

aos TKIs pelo que, nestas situações, e após deteção da mutação EGFR T790M responsável pela resistência, se poderá recorrer ao TKI de 3<sup>a</sup> geração **osimertimib**, um inibidor irreversível da TK EGFR (NOVELLO *et al.*, 2016).

#### 4.2.2. Fusão ALK

Enquanto que as células pulmonares normais não possuem sequer ALK, a fusão da ALK com a EML-4 (*echinoderm microtubule-associated protein-like 4*) diz respeito a um potente oncogene de fusão que leva à presença de uma potente tirosina cinase muito ativada nas células tumorais. É uma fusão comumente encontrada em indivíduos mais jovens, não fumadores ou com pouca exposição a tabaco, com EGFR não mutado ou mutações no gene KRAS, tendo alguns estudos demonstrado que a sua deteção é mais provável em fases III-IV, sugerindo que é um rearranjo associado a fases patológicas mais agravadas (GAO *et al.*, 2017). Um estudo de GAO *et al.* (2017) demonstrou, à semelhança de outros, que a presença de fusão ALK está associada a um pior prognóstico em doentes com resseção pulmonar, tendo estes doentes menor taxa de sobrevivência e menores períodos sem recidivas.

Doentes com fusão ALK devem fazer tratamento com **crizotinib** ou, em casos em que haja progressão ou intolerância, com **ceritinib**, um inibidor da tirosina cinase de 2<sup>a</sup> geração (NOVELLO *et al.*, 2016).

## **5. IMUNOTERAPIA NO ADENOCARCINOMA PULMONAR**

Uma das características dos tumores é a sua capacidade de evasão do sistema imunológico do doente conseguida por proteínas de superfície que inibem o reconhecimento por parte das células imunológicas. Ao impedir a ação destas proteínas, permite-se que o sistema imune inato do doente cumpra a sua função, reconhecendo e atacando as células tumorais.

### 5.1. INIBIDORES CHECKPOINT

A ação das células T citotóxicas (T<sub>c</sub>) é regulada por sinais estimulantes e inibitórios. Alguns tumores, têm a capacidade de fornecer sinais inibitórios que, em condições normais, servem para evitar reações autoimunes contra os tecidos do corpo, através da ligação de proteínas de superfície a dados recetores das células imunológicas, impedindo a sua ativação e escapando, assim, à sua ação (Figura 4a). Os inibidores de checkpoint (IC) focam-se nessas proteínas inibitórias com o objetivo de induzir a ativação e proliferação das células imunes contra as tumorais (Figura 4b) (DENG *et al.*, 2015).

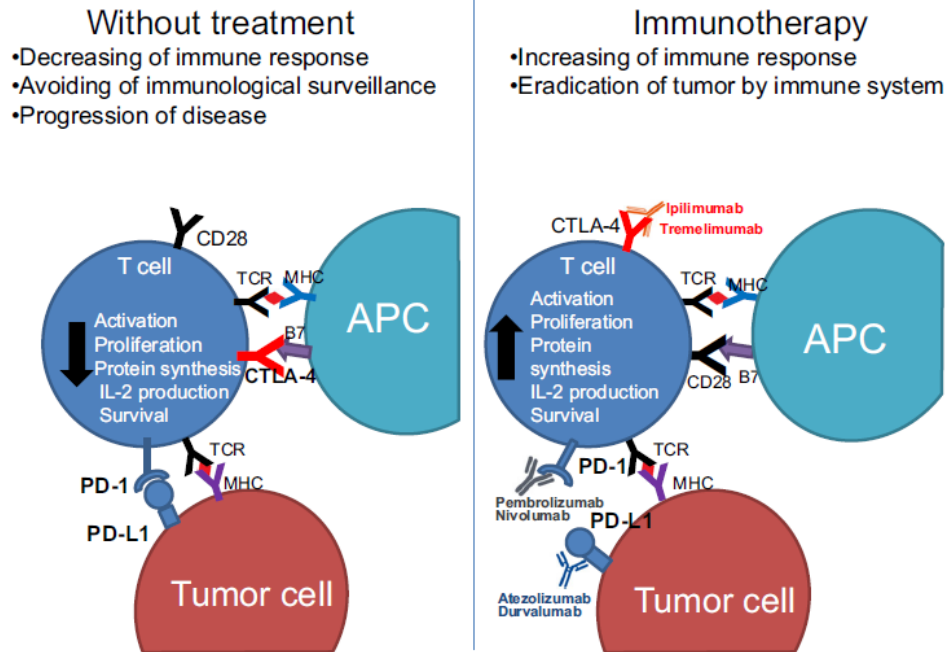


Figura 4 a) Inibição das células T<sub>c</sub> pelas células tumorais. Ocorre evasão à ação do sistema imunológico e progressão da doença. b) Uso de inibidores checkpoint: bloqueiam os mecanismos de evasão tumorais permitindo que os antígenos sejam apresentados pelas células apresentadoras de antígenos (APCs) e que as células T<sub>c</sub> não sejam inibidas. Figura retirada de (DENISENKO et al., 2018)

Atualmente, os checkpoints imunológicos mais estudados e em uso na clínica são o antígeno 4 associado aos linfócitos T (CTLA-4) e a proteína I de morte celular programada (PD-1) ou o seu ligando (PD-L1).

O CTLA-4 é um recetor expresso à superfície das células T citotóxicas ativadas que se liga às moléculas CD80/CD86 nas células apresentadoras de antígeno (APCs) prevenindo a hiperatividade das células T. Os tumores de células não pequenas demonstraram ter no seu ambiente muitas células T reguladoras que expressam CTLA-4 que lhes permitem evadirem-se da ação das células T citotóxicas (HERZBERG et al., 2016).

O **ipilimumab** foi o primeiro inibidor de checkpoint a ser usado na prática clínica no melanoma em 2011 (LI et al., 2017). Embora tenha mostrado alguma atividade no cancro do pulmão, este mostrou-se pouco relevante quando em monoterapia e em termos de relação custo/benefício.

Segundo um estudo de DENG et al. (2015), doentes com histórico de consumo de tabaco e com elevada quantidade de CTLA-4 antes do tratamento têm melhor resposta ao tratamento com inibidores do CTLA-4, o que sugere a necessidade de analisar o estado de ativação da via do CTLA-4 *a priori* de modo a personalizar o tratamento.

### 5.1.1. PD-1/PD-L1

À semelhança do CTLA-4, a interação do recetor PD-1 com o seu ligando tem-se mostrado um checkpoint imunitário relevante no ramo da oncologia. O PD-1 é um recetor presente na superfície das células T citotóxicas ativadas e tem dois ligandos, o PD-L2, presente nas APCs, e o PD-L1, que pode ser expresso em células T, B, natural killer, macrófagos, células epiteliais e do endotélio vascular. As células dos tumores de células não pequenas têm, por vezes, elevados níveis de PD-L1 expressos à superfície ou induzem a produção de células T reguladoras que o expressam em resposta à ação do sistema imunológico (Zhang *et al.*, 2018). A ligação PD-1/PD-L1 gera um efeito inibitório na ação das células T<sub>c</sub>, levando a que estas não atuem e a que haja diminuição da produção de citocinas.

O uso de anticorpos anti-PD-1 e anti-PD-L1 no cancro do pulmão tem mostrado uma resposta de 10 a 30% e uma melhoria na sobrevivência sem progressão de doença (SUMIMOTO *et al.*, 2016). No mesmo estudo de DENG *et al.* (2015) referido acima, também para o PD-1/PD-L1 foi demonstrado que a avaliação do ambiente imunológico e da presença de PD-1 no tumor será benéfico para adequar o tratamento e atingir melhores resultados.

Tabela 2 Inibidores PD-1/PD-L1 aprovados pela FDA para o cancro do pulmão de células não pequenas. Adaptado de HERZBERG *et al.*, 2016.

Composto	Alvo	Molécula	Aplicação
<i>Nivolumab</i>	PD-1	IgG4 humana	Doentes com progressão de doença após ou durante quimioterapia (QT) à base de platina
<i>Pembrolizumab</i>	PD-1	IgG4 humanizada	Doentes com metástases, tumores com PD-L1 e com progressão de doença durante e após quimioterapia à base de platina
<i>Atezolizumab</i>	PD-L1	IgG1	NSCLC que expressem PD-L1 e apresentem progressão após QT à base de platina
<i>Durvalumab</i>	PD-L1	IgG1	NSCLC avançado PD-L1 positivo e que tenha recebido pelo menos dois tratamentos prévios

Na clínica, atualmente, já existem dois inibidores PD-1 a serem utilizados, o **nivolumab** e o **pembrolizumab**, e dois inibidores do PD-L1: o **atezolizumab** e o **durvalumab** (Tabela 2). Contudo, nem todos os doentes mostram os mesmos resultados

em resposta ao tratamento com inibidores PD-1/PD-L1 e a determinação da expressão de PD-1 e PD-L1 *a priori* é insuficiente para fazer um prognóstico.

## 5.2. DESAFIOS DOS INIBIDORES CHECKPOINT E PERSPETIVAS FUTURAS

### 5.2.1. Heterogeneidade de Resposta aos Inibidores Checkpoint

Procurando uma solução para a heterogeneidade de resposta ao tratamento com inibidores checkpoint (apenas cerca de 20-30% dos doentes têm uma resposta favorável), um estudo de KARASAKI *et al.* (2017) sugeriu, com grande evidência, a execução de imunogramas tumorais aquando do diagnóstico, que permitem avaliar o estado imunológico do doente na região do tumor e fazer uma escolha terapêutica mais adequada.

A imunidade anticancerígena é um processo dinâmico e, possivelmente, o modo de evasão imunitária do tumor diferirá de doente para doente e de fase para fase (KARASAKI *et al.*, 2017). Um doente que apresente um imunograma rico em células T<sub>c</sub> terá grande quantidade de moléculas supressoras e, como tal, é-lhe recomendado o uso de terapêuticas que diminuam a ação supressora tais como inibidores checkpoint ou inibidores enzimáticos. De igual modo, um imunograma pobre em células T<sub>c</sub> demonstra que há falta de indução da resposta imunológica e, nestes casos, o uso de inibidores checkpoint será ineficaz e será mais correto induzir o aumento de células T<sub>c</sub> no local, tanto por indução de morte celular recorrendo a quimioterapia ou radioterapia, como através do uso de vacinas.

O estudo mostrou ainda, quando compararam os imunogramas com os fenótipos tumorais (com ou sem EGFR), que a histologia tumoral não permite prever os benefícios do uso de inibidores checkpoint.

DONG *et al.* (2017), no sentido de também prever com maior precisão a sensibilidade dos doentes à terapia com anti-PD-1, avaliou o valor preditivo da existência de mutações *KRAS* (driver oncogénico) e *TP53* (supressor tumoral) em doentes com NSCLC. Foi observado que a mutação *TP53* não só aumenta a expressão de PD-L1 como a expressão de outros mecanismos evasores da imunidade, provavelmente responsáveis pela resistência destes doentes ao tratamento com anti-PD-1. Em relação a doentes com mutação *EGFR*, observou-se, como aliás já observado noutros estudos, que estes doentes possuem um tumor pouco imunogénico, levando a uma menor eficácia dos fármacos anti-PD-1. Quanto aos doentes *KRAS* mutados, uma mutação mais frequente em fumadores, há melhor resposta aos anti-PD-1.

Os resultados deste estudo sugerem que a deteção de mutações *TP53* ou *KRAS* é importante para ajudar na avaliação do benefício do uso de inibidores checkpoint.

### 5.2.2. Progressão da Doença com Desenvolvimento de Resistência

Em muitas situações, é comum que as células cancerígenas tipo estaminais, com propriedades de renovação, diferenciação e tumorigénese, sobreviventes à terapêutica sejam as responsáveis pelo desenvolvimento de resistência e pela insurgência de nova progressão (LI *et al.*, 2017). Com o objetivo de encontrar terapêuticas menos falíveis, estão a ser estudados vários anticorpos bi-específicos (BsAb) que, ao terem afinidade para dois alvos diferentes, aumentam a especificidade de ligação ao tumor (LI *et al.*, 2017).

Num estudo de LI *et al.* (2017), foi estudado o potencial de um BsAb com afinidade para o CTLA-4 e para o c-MET (*cellular-mesenchymal to epithelial transition factor*) – fator contribuinte para a progressão tumoral ao favorecer a angiogénese e a citoproteção –, o BsAb-5.

As células dos tumores de células não pequenas mostraram ter maior expressão de c-MET e CTLA-4 que as dos tecidos normais e os resultados mostraram que, no grupo com c-MET, a progressão celular sofreu uma diminuição significativa, e que, no grupo com CTLA-4, a quantidade de células  $T_{reg}$  diminuiu e a de células  $T_c$  aumentou consideravelmente, verificando-se uma diminuição no volume do tumor. Isto sugere que o uso de BsAb pode potenciar a morte tumoral ao direcionar a resposta imunológica de forma mais específica graças à dupla especificidade para com os dois antígenos distintos, tendo um efeito cumulativo dos resultados anticancerígenos para além de um efeito sinérgico.

### 5.2.3. Indução de Células T reguladoras

As células T reguladoras induzidas ( $iT_{reg}$ ) pelas células tumorais são responsáveis pela resistência do tumor à resposta imunológica, na medida em que, são produzidas como resposta à afluência de células  $T_c$  para o local do tumor e que vão ter um efeito inibitório sobre as mesmas (Zhang *et al.*, 2018).

Um estudo de Zhang *et al.* (2018), avaliou a possibilidade de a diminuição de células  $iT_{reg}$  melhorar as estratégias imunoterapêuticas. Para este efeito, o estudo recorreu ao uso de ImmTAC (immune-mobilizing T-cell receptors), uma molécula de fusão que possui um recetor de antígeno com alta afinidade capaz de formar uma forte ligação com as células tumorais e um fragmento anti-CD3 humanizado com a capacidade de recrutar linfócitos  $T_c$ , que dirige a ação das células  $T_c$  contra as células tumorais ao formar uma sinapse imunológica através do recetor de antígeno. Segundo os resultados do estudo, o uso de ImmTAC sozinho é anulado pela resposta das  $iT_{reg}$  mas, quando utilizado em conjunto com anticorpos anti-PD1, que destabilizam a conversão das  $iT_{reg}$ , a atividade das células  $T_c$  é recuperada e a lise das células

tumorais por parte das células T CD8<sup>+</sup> aumentou mais de 81%, existindo mesmo um doente que mostrou que a morte celular teve um aumento de 8 vezes.

Estes resultados são promissores para ultrapassar a questão da imunossupressão causada pelas *i*T<sub>reg</sub> recorrendo ao efeito sinérgico dos anticorpos anti-PD-1 e de ImmTAC.

#### 5.2.4. Expressão de PD-L1 e Mutações Associadas

À medida que têm sido estudados os mecanismos de indução da expressão de PD-L1, tem-se constatado que estes mecanismos diferem de acordo com os vários tipos de cancro (SUMIMOTO *et al.*, 2016). Num estudo desenvolvido por SUMIMOTO *et al.* (2016), a relevância da sinalização RAS/MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase) foi demonstrada em NSCLC com mutações KRAS.

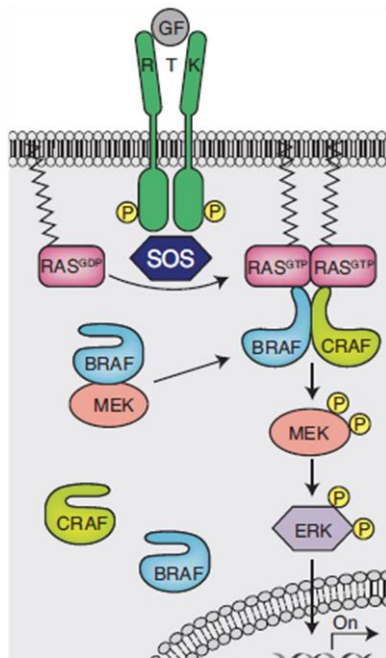


Figura 5 Via de Sinalização RAS/MAPK. Retirado de (HYMOWITZ *et al.*, 2018)

Nos doentes com mutações KRAS, a GTPase RAS fica num estado de ativação ininterrupta que, por sua vez, ativa a via de sinalização MAPK levando ao crescimento, proliferação e sobrevivência celulares (Figura 5) (HYMOWITZ *et al.*, 2018). Segundo o estudo de SUMIMOTO *et al.* (2016), há uma relação significativa entre a existência de mutações EGFR ou KRAS e o número elevado de PD-L1, assumindo-se que há uma ligação entre a cascata de sinalização iniciada pelos primeiros e a regulação da expressão de PD-L1. Foi demonstrado que a inibição da MEK em doentes KRAS mutados levou a uma redução de 50-60% da expressão de PD-L1, o que sugere que a via MAPK é importante para a expressão de PD-L1, podendo o uso de inibidores dirigidos à via de sinalização ter potencial

para serem utilizados em conjunto com anticorpos anti-PD-1 tendo em vista um efeito sinérgico.

#### 5.3. VACINAS

O uso de vacinas em doentes com metástases e cancro em fases avançadas tem mostrado resultados promissores na medida em que potencia uma resposta imunológica tumoral dirigida com baixos níveis de toxicidade (LIU *et al.*, 2018).

As vacinas recorrem ao uso de antígenos que, ao serem apresentados pelo MHC, ativam as células T citotóxicas. Contudo, o antígeno só, não tem capacidade de ativar células T em número significativo, pelo que se adicionam elementos co-estimulantes que aumentam a



imunogenicidade, podendo também recorrer a outras técnicas como o uso de interleucina 2 (IL-2) para promover a proliferação das células T<sub>c</sub> ou o uso de antígenos bacterianos que facilitam o reconhecimento como non-self (LIU *et al.*, 2018).

### 5.3.1. Viroterapia Oncolítica

De acordo com a ideia de que a resposta aos inibidores checkpoint está associada à existência de uma resposta imunológica prévia, têm-se desenvolvido esforços no sentido de aumentar as respostas imunes e potenciar a ação dos inibidores checkpoint (WOLLER *et al.*, 2015). Os vírus oncolíticos induzem inflamação nos tecidos tumorais, funcionando não só como destruidores do tumor, mas também como imunoestimulantes: a inflamação permite apresentação cruzada de antígenos e indução de células T dirigidas ao tumor (WOLLER *et al.*, 2015).

WOLLER e colaboradores (2015) avaliaram o efeito da injeção intratumoral de um adenovírus oncolítico (hTerAd) na resposta aos inibidores PD-1. Durante o estudo, não só demonstraram que o uso de viroterapia em conjunto com os inibidores checkpoint levou ao aumento significativo de células T citotóxicas, como também demonstraram que os níveis de expressão de PD-L1 aumentaram, o que é consistente com a hipótese apresentada de que a viroterapia pode reverter a resistência aos anti-PD-1 e, portanto, ajudar a reduzir as metástases. Demonstraram ainda que, com viroterapia, é possível contornar a barreira de que a imunoterapia apenas é efetiva em tumores com elevada carga mutacional ao ter mostrado resultados muito favoráveis da combinação da viroterapia com anti-PD-1 num tipo de colangiocarcinoma pouco imunogénico.

### 5.3.2. Vacinas de DNA associadas ao sPD-1

LIU e colaboradores (2018) avaliaram o benefício de associar PD-1 solúvel (sPD-1) a uma vacina de DNA com dois antígenos tumorais – survivina e MUC1 – (MS) altamente expressos em tecidos tumorais na ativação e proliferação dos linfócitos T, bem como na resposta tumoral específica.

O sPD-1 tem capacidade de ligar aos PD-L1 e PD-L2 e tem sido estudado nas vacinas de DNA como um fator importante para a ativação de células dendríticas e a apresentação cruzada de antígenos (LIU *et al.*, 2018). No estudo de LIU e colaboradores (2018), realizado em animais, os resultados foram favoráveis: o tempo de sobrevivência dos ratos aumentou com a administração da vacina sPD1/MS, o nível de células T citotóxicas nos tecidos tumorais aumentou de 0,1% para 0,65% e o de células T<sub>reg</sub> diminuiu 28,67%. O estudo mostrou ainda a possibilidade do uso de vacinas sPD1/MS no tratamento do cancro quando associadas à

terapêutica com oxaplatina em baixas quantidades, visto terem um efeito imunoestimulante aumentando a expressão de interferão gama (INF- $\gamma$ ), e uma inibição de cerca de 74% do crescimento tumoral.

### 5.3.3. Anticorpos Induzidos por Vacinas para NSCLC com mutação EGFR

Como referido anteriormente, as mutações EGFR são um critério terapêutico relevante e vários estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de tirar partido da indução de anticorpos anti-EGF por meio de vacinação.

Num estudo de CODONY-SERVAT e colaboradores (2018), o efeito de anticorpos anti-EGF induzidos por vacinação (anti-EGF VacAbs) em linhas celulares de NSCLC EGF mutado foi analisado. No estudo, foi demonstrado que os VacAbs não só têm um efeito supressor nos efeitos estimulantes do crescimento celular por parte do EGF na maioria das mutações, como também impedem a ativação da cinase 1/2 regulada por sinais extracelulares (Erk1/2) pelo mesmo, mesmo em células com mutações resistentes aos inibidores da tirosina cinase. Outros resultados promissores foram a demonstração de que o uso de VacAbs aumenta o tempo necessário para que surja resistência aos TKI, principalmente em relação ao afatinib. Ficou assim demonstrado que a vacinoterapia pode ser de valor para superar a problemática da resistência aos TKIs.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de todos os avanços da medicina e do conhecimento relativamente ao cancro do pulmão, este continua a ser das principais causas de morte a nível mundial (EuroStat, 2018). Embora as terapias convencionais de quimio e radioterapia sejam eficazes em doentes em fases iniciais, são ineficazes em doentes de fase IV, com metástases e com recorrência da doença (LIU *et al.*, 2018), pelo que são necessárias novas terapias, mais eficazes e com menos riscos e diminuição de qualidade de vida associados.

O surgimento de inibidores checkpoint, que veio contrapor a ideia de que o cancro do pulmão é um cancro pouco imunogénico (HERZBERG *et al.*, 2016), trouxe elevadas esperanças após os resultados positivos dos ensaios clínicos, em que se demonstrou haver maior taxa de resposta e de sobrevivência comparativamente com agentes quimioterapêuticos de primeira linha como o docetaxel (BORGHAEI *et al.*, 2015). Contudo, na prática clínica, os resultados obtidos não têm sido os esperados e uma elevada percentagem de doentes com tumores de células não pequenas não respondem ao tratamento com anticorpos anti-PD-1 (KARASAKI *et al.*, 2017).

De modo a poder ultrapassar as debilitações das terapias com inibidores checkpoint, primeiro será necessário encontrar meios mais fiáveis de prever a suscetibilidade de um determinado doente à terapia. Neste caso, a carga de PD-1 não será o fator mais relevante, ao contrário do que se pensava anteriormente, tendo sido demonstrado que existem outros fatores importantes como a co-existência de mutações em genes que influenciem a menor/maior expressão de PD-1 e a ocorrência de resistência aos inibidores checkpoint, como é o caso do *KRAS* e do *TP53* (DONG *et al.*, 2017), ou a avaliação do ambiente imunológico do tumor, dado que um tumor com um ambiente pobre em linfócitos T<sub>c</sub> não irá responder a uma terapia que se destine a potenciar a sua ação (KARASAKI *et al.*, 2017).

Além da questão da previsão de sensibilidade do doente à terapêutica, a ocorrência de resistência e a falta de eficácia são outros problemas associados aos inibidores checkpoint e que poderão ser ultrapassados pelo uso de terapias em combinação e de vacinas, com o objetivo de aumentar a especificidade dos fármacos e obter efeitos sinérgicos de modo a que diminua a probabilidade de remanescerem células que irão dar origem a linhagens celulares resistentes (LI *et al.*, 2017) (WOLLER *et al.*, 2015).

Ainda dentro das terapêuticas imunológicas, o desenvolvimento de vacinas está a demonstrar resultados bastante promissores, apresentando-se como estratégias terapêuticas eficientes, capazes de estimular respostas imunológicas dirigidas contra as células tumorais

com baixo nível de toxicidade (LIU *et al.*, 2018). As vacinas estão, neste momento, a ser estudadas como meio de potenciar a eficácia dos inibidores checkpoint ao estimular a resposta imunológica (WOLLER *et al.*, 2015) (LIU *et al.*, 2018) e, também, como um método para superar a resistência aos inibidores da tirosina cinase utilizados no tratamento de doentes com mutação EGFR através da indução de anticorpos contra esses mesmos recetores (Codony-Servat *et al.*, 2018).

Enquanto é evidente a promessa de que a imunoterapia é o futuro da terapia do adenocarcinoma pulmonar, todos os dias novos desafios surgem e é importante, em primeiro lugar, continuar a estudar os mecanismos que estão na origem da sua falência e, em segundo, continuar a procurar métodos capazes de os ultrapassar, sendo claro que os novos ensaios deverão recair principalmente sobre terapias de combinação, sejam elas de combinação de dois ou mais inibidores checkpoint, de combinação de vacinas e inibidores checkpoint ou de combinação de inibidores checkpoint e/ou inibidores da tirosina-cinase e/ou vacinas.

## BIBLIOGRAFIA

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. – Cancer. In **Molecular Biology of the Cell**. 5. ed. New York: Garland Science, 2015. ISBN 978-0-8153-4106-2. p. 1205–1256.

AZEVEDO, C.; SUNKEL, C. E. – Célula Neoplásica. In **Biologia Celular e Molecular**. 5. ed. Lisboa: Lidel, 2012. ISBN 9789727576920. p. 500–519.

BORGHAEI, H.; PAZ-ARES, L.; HORN, L.; SPIGEL, D. R.; STEINS, M.; READY, N. E.; CHOW, L. Q.; VOKES, E. E.; FELIP, E.; HOLGADO, E.; BARLESI, F.; KOHLHAUFL, M.; ARRIETA, O.; BURGIO, M. A.; FAYETTE, J.; LENA, H.; PODDUBSKAYA, E.; GERBER, D. E.; GETTINGER, S. N.; RUDIN, C. M.; RIZVI, N.; CRINÒ, L.; BLUMENSCHNEIN, G. R.; ANTONIA, S. J.; DORANGE, C.; HARBISON, C. T.; GRAF FINCKENSTEIN, F.; BRAHMER, J. R.. **Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer**. *The New England Journal of Medicine*. **373**, (2015), 1627–1639.

CODONY-SERVAT, J., GARCÍA-ROMAN, S., MOLINA-VILA, M. Á., BERTRAN-ALAMILLO, J., GIMÉNEZ-CAPITÁN, A., VITERI, S., CARDONA, A. F., D'HONDT, E., KARACHALIOU, N. and ROSELL, R. **Anti-Epidermal Growth Factor Vaccine Antibodies Enhance the Efficacy of Tyrosine Kinase Inhibitors and Delay the Emergence of Resistance in EGFR Mutant Lung Cancer Cells**. *Journal of Thoracic Oncology*. **18**, (2018), 1324–1337.

DEAN, A. G. and KREIS, R. **Understanding Lung Cancer: Presentation, Screening, and Treatment Advances**. *The Journal for Nurse Practitioners*. **14**, (2018), 316–322.

DENG, L., GYORFFY, B., NA, F., CHEN, B., LAN, J., XUE, J., ZHOU, L. and LU, Y. **Association of PDCDI and CTLA-4 gene expression with clinicopathological factors and survival in non-small-cell lung cancer: Results from a large and pooled microarray database**. *Journal of Thoracic Oncology*. **10**, (2015), 1020–1026.

DENISENKO, T. V., BUDKEVICH, I. N. and ZHIVOTOVSKY, B. **Cell death-based treatment of lung adenocarcinoma article**. *Cell Death and Disease*. **9**, (2018), 1–14.

DJURDJEVIC, S., SPONSIELLO-WANG, Z., LEE, P. N., FRY, J. S., WEITKUNAT, R., LÜDICKE, F. and BAKER, G. **Modeling the impact of changes in tobacco use on individual disease risks**. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. **97**, (2018), 88–97.

DONG, Z., ZHONG, W., ZHANG, X., SU, J., XIE, Z., LIU, S., TU, H., CHEN, H., SUN, Y., ZHOU, Q., YANG, J., YANG, X., LIN, J., YAN, H., ZHAI, H. and YAN, L. **Potential Predictive Value of TP53 and KRAS Mutation Status for Response to PD-1 Blockade Immunotherapy in Lung Adenocarcinoma.** *Clinical Cancer Research.* **23**, (2017), 3012–3024.

EUROSTAT. **Cancer statistics.** *Statistics Explained* (2017). [Consultado em: 03 de julho de 2018] Disponível em: <https://ec.europa.eu/eurostat/statisticsexplained/>

EUROSTAT. **Cancer statistics - specific cancers.** (2018). [Consultado em: 03 de julho de 2018] Disponível em: [https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Cancer\\_statistics\\_-\\_specific\\_cancers](https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Cancer_statistics_-_specific_cancers)

GAO, Q., LI, P., JIANG, X. and ZHAN, Z. **Worse disease-free, tumor-specific, and overall survival in surgically-resected lung adenocarcinoma patients with ALK rearrangement.** *Oncotarget.* **8**, (2017), 86066–86081.

GRIDELLI, C., ROSSI, A., CARBONE, D. P., GUARIZE, J., KARACHALIOU, N., MOK, T., PETRELLA, F., SPAGGIARI, L. and ROSELL, R. **Non-small-cell lung cancer.** *Nature Reviews – Primer.* **1**, (2015), 1–16.

LI, J., NIU, Y.-Y., XING, Y. and LIU, F. **A novel bispecific c-MET/CTLA-4 antibody targeting lung cancer stem cell-like cells with therapeutic potential in human non-small cell lung cancer.** *Bioscience Reports.* (2017) DOI: 10.1042/BSR20171278.

HENSCHKE, YIP, M., MIETTINEN. **Women’s Susceptibility to Tobacco Carcinogens and Survival After Diagnosis of Lung Cancer.** *Journal of American Medical Association.* **296**, (2015), 180–184.

HERZBERG, B., CAMPO, M. J. and GAINOR, J. F. **Immune Checkpoint Inhibitors in Non-Small Cell Lung Cancer.** *The Oncologist.* **21**, (2016), 1–8.

HYMOWITZ, S. G. and MALEK, S. **Targeting the MAPK Pathway in RAS Mutant.** *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine.* **8**, (2018), 1–15.

KANWAL, M., DING, X. J. I. and CAO, Y. I. **Familial risk for lung cancer.** *Oncology Letters.* **13**, (2017), 535–542.

KARASAKI, T., NAGAYAMA, K. and KUWANO, H. **An Immunogram for the Cancer-Immunity Cycle: Towards Personalized Immunotherapy of Lung Cancer.** *Journal of Thoracic Oncology.* **12**, (2017) 791–803.

LIU, C., LU, Z., XIE, Y., GUO, Q., GENG, F., SUN, B., WU, H., YU, B., WU, J., ZHANG, H., YU, X. and KONG, W. **Soluble PD-I-based vaccine targeting MUC1 VNTR and survivin improves anti-tumor effect.** *Immunology Letters.* **200**, (2018), 33–42.

NOVELLO, S., BARLESI, F., CALIFANO, R., CUFER, T., EKMAN, S., LEVRA, M. G., KERR, K., POPAT, S., RECK, M., SENAN, S., SIMO, G. V, VANSTEENKISTE, J., PETERS, S. and COMMITTEE, G. **clinical practice guidelines Metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and clinical practice guidelines.** *Annals of Oncology* **27**, (2016), 1–27.

OTTO WARBURG, B., WIND, F. and NEGELEIN, N. **The Metabolism of Tumors in the Body.** *The Journal of General Physiology.* **309**, (1923), 397–519.

POSTMUS, P. E., KERR, K. M., OUDKERK, M., SENAN, S., WALLER, D. A., VANSTEENKISTE, J., ESCRUI, C. and PETERS, S. **Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up.** *Annals of Oncology.* **28**, (2017), 1–21.

SHTIVELMAN, E., HENSING, T., SIMON, G. R., DENNIS, P. A., OTTERSON, G. A., BUENO, R. and SALGIA, R. **Molecular pathways and therapeutic targets in lung cancer.** *Oncotarget.* **5**, (2014), 1392–1433.

SUMIMOTO, H., TAKANO, A., TERAMOTO, K. and DAIGO, Y. **RAS – Mitogen-Activated Protein Kinase Signal Is Required for Enhanced PD-L1 Expression in Human Lung Cancers.** *Plos One.* **11**, (2016), 1–18.

TU, C., CHEN, C., LIAO, W. and WU, B. **Comparison of the effects of the three major tyrosine kinase inhibitors as first-line therapy for non-small-cell lung cancer harboring epidermal growth factor receptor mutations Patient characteristics.** *OncoTarget.* **9**, (2018), 24237–24247.

WARDEN, H., RICHARDSON, H., RICHARDSON, L., SIEMIATYCKI, J. and HO, V. **Associations between occupational exposure to benzene, toluene and xylene and risk of lung cancer in Montréal.** *Occupational and Environmental Medicine.* (2018) DOI:10.1136/oemed-2017-104987.

WEINBERGER, S. E., COCKRILL, B. A. and MANDEL, J. **Lung Cancer: Etiologic and Pathologic Aspects.** In *Principles of Pulmonary Medicine 7<sup>th</sup> Ed.* (2008), 253–262. Ebook ISBN 9780323523738.

WENG, M., LEE, H., PARK, S., HU, Y., WANG, H. and CHEN, L. **Aldehydes are the predominant forces inducing DNA damage and inhibiting DNA repair in tobacco smoke carcinogenesis.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* (2018), 1–10. DOI: 10.1073/pnas.1804869115.

WOLLER, N., GÜRLEVIK, E., FLEISCHMANN-MUNDT, B., KNOCKE, S., KLOOS, A. M., SABOROWSKI, M., GEFFERS, R., MANNS, M. P., WIRTH, T. C., KÜHNEL, F., WOLLER, N., GÜRLEVIK, E., FLEISCHMANN-MUNDT, B. and SCHUMACHER, A. **Viral infection of tumors overcomes resistance to P D-I- immunotherapy by broadening neoantigenome-directed T-cell responses.** *Molecular Therapy.* **23**, (2015), 1630–1640.

YUAN, J., NELSON, H. H., CARMELLA, S. G., WANG, R., KURIGER-LABER, J., JIN, A., ADAMS-HADUCH, J., HECHT, S. S., KOH, W. and MURPHY, S. E. **CYP2A6 genetic polymorphisms and biomarkers of tobacco smoke constituents in relation to risk of lung cancer in the Singapore Chinese Health Study.** *Carcinogenesis.* **38**, (2017), 411–418.

ZHANG, H., LI, Y., LIU, X., LIANG, Z., YAN, M., LIU, Q., CHEN, A., BAO, Y., ZHOU, C., LI, S. and YEE, C. **ImmTAC/Anti-PD-I Combination to Enhance Killing of Cancer cells by Reversing Treg-mediated Immunosuppression.** *Immunology.* (2018) DOI: 10.1111/imm.12954

KAZUHIRO, Y., YASUO, M., SUSUMU, U., SHINGO, N., TAKAKO, K., FUMIHIRO, T., HIDEAKI, S. and TOSHIAKI, H. **Cancer Risks of Hexavalent Chromium in the Respiratory Tract.** *Journal of UOEH.* **40**, (2018), 157–172.