



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Andreia Soares Magalhães

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Sirtuin-3 (SIRT3) as a therapeutic target in cancer” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Olívia Maria de Jesus Gomes, da Doutora Cátia Moreira de Sousa e da Professora Doutora Alexandrina Maria Ferreira dos Santos Pinto Mendes e, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2022

1 2 9 0



UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

Andreia Soares Magalhães

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Sirtuin-3 (SIRT3) as a therapeutic target in cancer” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Olívia Maria de Jesus Gomes, da Doutora Cátia Moreira de Sousa e da Professora Doutora Alexandrina Maria Ferreira dos Santos Pinto Mendes e, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2022

Eu, Andreia Soares Magalhães, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2016244407, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Sirtuin-3 (SIRT3) as a therapeutic target in cancer” 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, 2 de setembro de 2022.

Andreia Soares Magalhães

(Andreia Soares Magalhães)

Agradecimentos

Porque nenhum caminho se faz sozinho, é imperativo agradecer a todos aqueles que comigo caminharam, que me ensinaram e que contribuíram de alguma forma para a realização do meu percurso académico e para a minha evolução pessoal nestes anos.

Aos meus Pai, Mãe e Irmã, pelo constante apoio, pela paciência, por estarem presentes nos bons e nos maus momentos e por terem sempre uma palavra de encorajamento e conforto para me dirigir. Para eles o meu maior obrigada é insuficiente, por tudo o que são e fazem por mim.

À minha família, que possui o dom de tornar o longe perto e por serem as pessoas com a maior disponibilidade e coração que conheço. O meu enorme obrigada por estarem presentes a cada passo do caminho. Em especial às minhas madrinhas Lurdes e Carla e aos meus primos João e Márcia por toda a ajuda concedida e disponibilidade constante que tiveram nesta etapa.

Ao Diogo, que me acompanhou, auxiliou, apoiou e festejou comigo todas as minhas conquistas como se dele fossem. Pela paciência que tiveste, pelo suporte que és para mim e pelo quanto crescemos juntos, o meu obrigada especial.

Obrigada, enorme, à Gi e à Ana Sara por estarem sempre lá para mim e por serem os melhores modelos que podia pedir, para mim são família.

Obrigada à Carla, à Bruna, este percurso, e especialmente o quinto ano não seria o mesmo sem vocês. Obrigada pela companhia, pelo convívio, por estarem sempre presentes e por serem as pessoas que são. A amizade perdurará muito além deste percurso.

Aos amigos que tornaram este percurso especial, aos membros e amigos da lista I, aos amigos da IPSF, obrigada. Sem vocês o meu percurso não tinha sido tão colorido.

Obrigada, em particular, à Joana Carvalho, à Bia, à Elsa, à Cristina, à Laura, ao Alex, à Jéssica, ao Bruno, à Joana Novais e à Hanadi, por estarem sempre disponíveis e por todas as palavras amigas e de conforto, não teria sido igual sem vocês.

À Professora Doutora Alexandrina Mendes, pela dedicação, ajuda, simpatia, e orientação concedidas na realização desta monografia, obrigada.

À Doutora Cátia Sousa, por todos os ensinamentos, disponibilidade e simpatia com que me recebeu no estágio, obrigada.

A toda a equipa da farmácia do cavaco, pela disponibilidade e simpatia, e por me ajudarem a crescer pessoal e profissionalmente, obrigada.

A todos, muito obrigada!

Índice

Parte I - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

1. Introdução.....	7
2. A Farmácia do Cavaco	7
3. Análise SWOT	8
3.1 <i>Strengths</i> (Pontos Fortes).....	8
3.1.1 Equipa técnica	8
3.1.2 Ausência de <i>robot</i> / Trabalho de <i>BackOffice</i>	8
3.1.3 Plano de estágio e autonomia	8
3.1.4 Horário da farmácia/ localização/ heterogeneidade de utentes	9
3.1.5 Medição de parâmetros analíticos.....	9
3.1.6 Domínio da língua inglesa.....	10
3.1.7 Preparação de manipulados	10
3.1.8 Formação dermofarmácia e cosmética	10
3.2 <i>Weaknesses</i> (Pontos Fracos)	10
3.2.1 Lacunas em conhecimentos para aconselhamento de produtos de uso veterinário	10
3.2.2 Associar nome comercial ao respetivo princípio ativo	11
3.2.3 Receio de falhar	11
3.3 <i>Opportunities</i> (Oportunidades).....	11
3.3.1 Oportunidade de trabalhar com o Sifarma 2000® e o novo Sifarma®	11
3.3.2 Formação continua	11
3.3.3 Desenvolvimento pessoal e de <i>soft skills</i>	12
3.4 <i>Threats</i> (Ameaças).....	12
3.4.1 Quebra no <i>stock</i> dos medicamentos	12
3.4.2 Informação não verificada disponível na <i>internet</i>	12
4. Conclusão	13
5. Casos Práticos.....	13
6. Referências Bibliográficas.....	16
Anexos	17

Parte II - Relatório de Estágio em Investigação

Lista de Abreviaturas	22
1. Introdução.....	23
2. Análise SWOT	24

2.1 <i>Strengths</i> (Pontos Fortes)	24
2.1.1 Bem recebida pelo grupo	24
2.1.2 Contacto com vários projetos e várias técnicas laboratoriais	24
2.1.3 Plano de estágio.....	24
2.1.4 Apresentação dos trabalhos realizados: a estagiárias e ao grupo de investigação	24
2.1.5 Aplicação prática dos conhecimentos adquiridos no estágio.....	25
2.1.6 Construção de um caderno de laboratório.....	25
2.2 <i>Weaknesses</i> (Pontos Fracos)	25
2.2.1 Altura de pouco trabalho no laboratório.....	25
2.2.2 Duração do estágio	25
2.3 <i>Opportunities</i> (Oportunidades)	26
2.3.1 Aplicação dos conhecimentos adquiridos no MICF e aquisição de novas competências	26
2.3.2 Participação na Reunião Anual da Sociedade Portuguesa de Farmacologia (SPF).	26
2.3.3 Dicas e conhecimentos úteis para o futuro	26
2.3.4 Realização de pesquisas sobre técnicas laboratoriais	26
2.4 <i>Threats</i> (Ameaças).....	27
2.4.1 COVID-19	27
2.4.2 Alguns conhecimentos menos presentes	27
2.4.3 Mestrado Integrado e Caminho para investigação	27
3. Conclusão	27
4. Referências Bibliográficas.....	29
Anexos	30

Parte III - Monografia “Sirtuin-3 (SIRT3) as a therapeutic target in cancer”

1. Introduction.....	36
2. Metabolism and cancer	37
3. Sirtuin 3: physiological functions and role in cancer	40
4. Sirtuin 3 and cancer	44
4.1 Sirt3 as a prognostic marker.....	44
4.2 Modulators of SIRT3 as potential anti-cancer drugs	48
4.3 SIRT3 and sensitivity/resistance to chemotherapy and radiotherapy.....	52
5. Conclusion.....	54
6. Bibliography	56

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia do Cavaco



Farmácia do Cavaco

Orientado pela Dra. Olívia Maria de Jesus Gomes

I. Introdução

O farmacêutico possui uma formação académica muito abrangente, permitindo que o mesmo ingresse nas mais variadas áreas profissionais, ligadas ou não à área da saúde, estando entre elas: investigação científica, indústria farmacêutica, assuntos regulamentares, distribuição farmacêutica, farmácia hospitalar, farmácia comunitária, entre outras.¹

Na formação académica de um farmacêutico está incluído o estágio profissional, permitindo assim aos estudantes que terminam o seu curso, estabelecer uma ponte entre a realidade do ensino e a realidade profissional.

O estágio em farmácia comunitária possibilita uma interação próxima do utente uma vez que, devido à fácil acessibilidade de uma farmácia, esta é muitas vezes o local de primeiro contacto entre o utente e um profissional de saúde qualificado. O farmacêutico comunitário, para além da cedência de medicamentos, tem um papel extremamente relevante nomeadamente na gestão da terapêutica, administração de medicamentos, determinação de parâmetros, identificação de pessoas em risco, deteção precoce de diversas doenças, promoção de estilos de vida mais saudáveis e promoção do uso racional do medicamento.²

O relatório de estágio realizado será apresentado na forma de análise SWOT: *Strengths* (Forças), *Weaknesses* (Fraquezas), *Opportunities* (Oportunidades) e *Threats* (Ameaças). Sendo assim, as forças e as fraquezas são fatores internos, sendo as oportunidades e ameaças fatores externos. O relatório será ainda seguido de 5 casos práticos observados durante o estágio.

2. A Farmácia do Cavaco

A Farmácia do Cavaco localiza-se na zona industrial do Cavaco, na cidade de Santa Maria da Feira. Foi inaugurada no ano de 2003 celebrando no corrente ano 19 anos de existência, sob a direção técnica da Dra. Olívia Maria de Jesus Gomes.

A equipa desta farmácia é constituída por 9 farmacêuticos e 2 técnicos de farmácia, sendo uma equipa muito dinâmica, organizada, simpática e sempre disponível.

Esta farmácia apresenta ainda um horário de funcionamento de 24h, todos os dias.

3. Análise SWOT

3.1 Strengths (Pontos Fortes)

3.1.1 Equipa técnica

A equipa da Farmácia do Cavaco é uma equipa dinâmica, coesa e organizada. É por isso bastante fácil perceber onde arquivar cada documento, como por exemplo receitas manuais, documentos de saída de psicotrópicos e receitas veterinárias, onde são colocadas as reservas efetuadas (pagas e não pagas) e os locais onde devem ser colocados cada tipo de medicamentos desde a entrada na farmácia até à sua dispensa.

Ao longo do estágio tive oportunidade de realizar turnos com todos os elementos da equipa da farmácia, sendo uma mais-valia para a minha aprendizagem uma vez que aprendi coisas diferentes com cada um deles que, por certo, contribuíram para aperfeiçoar e adquirir novos conhecimentos, tornando-me assim uma melhor farmacêutica.

3.1.2 Ausência de *robot* / Trabalho de *BackOffice*

A Farmácia do Cavaco não possui *robot*, fazendo com que os medicamentos uma vez rececionados sejam arrumados em gavetas por ordem alfabética, permitindo ao farmacêutico um rápido e fácil acesso aos mesmos durante o atendimento. A quantidade excedente é armazenada no armazém sob condições controladas e ordenada por ordem alfabética e as gavetas são diariamente reabastecidas.

Dado todo este circuito interno do medicamento na farmácia, é muito frequente o contacto com todos os produtos que a farmácia possui.

Como estagiária considero que foi uma mais-valia para o meu estágio todo este contacto com os medicamentos no *BackOffice*. Esse contacto ajudou-me a associar nomes comerciais a princípios ativos, dando-me ainda a oportunidade de questionar sobre produtos e medicamentos sobre os quais tinha menos conhecimentos para que pudesse prestar um melhor e mais autónomo atendimento.

3.1.3 Plano de estágio e autonomia

Iniciei o meu estágio no *BackOffice* onde pude contactar com todos os produtos da farmácia (como anteriormente mencionado), realizar entrada de encomendas, efetuar devoluções e reclamações, arrumar e ordenar o armazém e gavetas, perceber como funciona

a gestão de *stocks* e o controlo de prazos de validade. Posteriormente, fui acompanhando e auxiliando em vários atendimentos, o que me permitiu aumentar os meus conhecimentos e ganhar algum “à vontade” ao balcão. Passando posteriormente a atender mais autonomamente, mas sempre com auxílio próximo da equipa quando necessário.

Este plano de estágio permitiu-me adquirir uma maior segurança e confiança nos atendimentos.

Considero uma mais-valia a autonomia que me foi dada no estágio, pois dessa forma consegui aproximar-me um pouco mais da realidade profissional, sabendo, no entanto, que tinha sempre alguém por perto para me auxiliar dando-me a confiança e o conforto necessários para realizar todas as tarefas.

3.1.4 Horário da farmácia/ localização/ heterogeneidade de utentes

A Farmácia do Cavaco localiza-se perto do Centro hospitalar entre Douro e Vouga e de vários centros de saúde. Funciona 24h tendo utentes fidelizados, mas também muitos utentes esporádicos, devido á sua localização e horários de funcionamento.

Foi uma mais-valia estagiar numa farmácia com estas condições, pois tive oportunidade, não só de realizar atendimentos de utentes regulares em que já possuíamos a informação do utente, sendo por isso atendimentos mais rotineiros (muitas vezes para aviar receituário), mas também, realizar atendimento de utentes esporádicos, não sendo tão rotineiros.

O contacto com vários tipos de atendimentos e vários tipos de horários realizados pela farmácia permitiu-me alargar ainda mais as minhas aprendizagens, na medida em que presenciei e experienciei um maior número de realidades, que experienciarei no mundo do trabalho.

3.1.5 Medição de parâmetros analíticos

Na Farmácia do Cavaco é realizada a medição de parâmetros analíticos como tensão arterial, glicemia, colesterol e triglicerídeos.

A realização destas medições permite-nos um acompanhamento mais próximo do utente e da sua situação de saúde, aumentando ainda a confiança entre o farmacêutico e o utente. É notória a diferença no atendimento e o aumento da proximidade aos utentes que vinham diária ou semanalmente realizar as suas medições.

3.1.6 Domínio da língua inglesa

O período de realização do estágio incluiu os meses de junho e julho, meses em que é mais notória a presença de turistas e visitantes estrangeiros que muitas vezes não falam português. O domínio do inglês foi por isso fundamental para a realização de um bom atendimento. Apesar de já possuir bastante vontade em comunicar na língua inglesa, senti que foi uma boa oportunidade para evoluir o meu vocabulário científico e sair da minha zona de conforto.

3.1.7 Preparação de manipulados

Durante a realização do estágio tive a oportunidade de realizar a preparação de uma solução alcoólica de ácido bórico a 60%, preencher a respetiva ficha de preparação, elaborar o rótulo e realizar o cálculo do preço. Foi uma excelente oportunidade para consolidar e praticar em contexto real os conhecimentos adquiridos em galénica e tecnologias farmacêuticas. (Anexos 1 e 2)

3.1.8 Formação dermofarmácia e cosmética

Ao longo do estágio muitos utentes solicitaram aconselhamento de dermocosmética. Senti que os conhecimentos adquiridos na faculdade nas unidades curriculares de dermofarmácia e cosmética e indicação farmacêutica permitiram uma melhor avaliação das situações dos utentes e uma maior segurança no aconselhamento deste tipo de produtos. Sem dúvida a aprendizagem realizada nas duas unidades curriculares é extremamente útil e muito focada na realidade profissional em farmácia comunitária.

3.2 Weaknesses (Pontos Fracos)

3.2.1 Lacunas em conhecimentos para aconselhamento de produtos de uso veterinário

Apesar de no MICF (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) possuímos uma unidade dedicada aos produtos e medicamentos de uso veterinário, a matéria lecionada na mesma encontra-se distante do conhecimento necessário na prática profissional. Derivado da falta de conhecimentos mais práticos, quando questionada por utentes sobre estes produtos, sobretudo numa fase inicial do estágio tive de recorrer mais vezes à ajuda de farmacêuticos da equipa.

3.2.2 Associar nome comercial ao respetivo princípio ativo

Ao terminarmos a nossa formação teórica do MICF os medicamentos são-nos muito mais familiares por princípio ativo do que por nome comercial. Numa fase inicial do estágio quando questionada pelo utente se determinado medicamento com o nome de marca constava na receita senti dificuldades em responder imediatamente, sendo necessário recorrer ao Sifarma[®] para posteriormente responder ao utente. No entanto, e como já anteriormente mencionado, o trabalho do *BackOffice* ajudou em grande parte a superar esta dificuldade.

3.2.3 Receio de falhar

Apesar da enorme base que o curso nos dá e que nos prepara em termos teóricos para a realidade profissional, por vezes no primeiro contacto o nervosismo e o medo de falhar impedem-nos de rapidamente utilizar esse conhecimento, para responder a perguntas que nos são colocadas pelo utente ao longo do atendimento. No entanto, sinto que no final do estágio a confiança que ganhamos com a prática permitem-nos superar o medo e melhorar o nosso desempenho, utilizando todos os conhecimentos e ferramentas fornecidas na faculdade e contacto com a equipa.

3.3 Opportunities (Oportunidades)

3.3.1 Oportunidade de trabalhar com o Sifarma 2000[®] e o novo Sifarma[®]

Na Farmácia do Cavaco é utilizado o programa Sifarma 2000[®] para as atividades de *BackOffice*, pois o novo Sifarma[®] ainda não possui todas as funcionalidades. Para o atendimento já é utilizado o novo Sifarma[®]. Assim, durante o estágio tive a possibilidade de aprender a utilizar ambos os Sifarma[®] e realizar ainda alguns atendimentos no Sifarma 2000[®]. Considero que esta foi uma aprendizagem valiosa.

O Sifarma2000[®] é útil quando ocorrem falhas de *internet* ou problemas com os servidores do novo Sifarma[®], permitindo assim continuar o atendimento.

3.3.2 Formação continua

Outra grande oportunidade de aprendizagem nos estágios em farmácia comunitária são as constantes formações que temos oportunidade de assistir na farmácia, e que nos

proporcionam um maior conhecimento de determinados produtos, estratégias de venda, *crosseling* e conhecimentos para um melhor aconselhamento do mesmo.

Tive ainda a oportunidade de poder realizar algumas formações online que me foram oferecidas, proporcionando-me assim uma grande oportunidade de aumentar o meu conhecimento prático para um melhor aconselhamento.

3.3.3 Desenvolvimento pessoal e de *soft skills*

Para além da oportunidade que o estágio nos dá de consolidar os conhecimentos teóricos do MICF e aplicá-los de forma prática à realidade profissional, o estágio proporciona ainda oportunidades para crescimento pessoal e de *soft skills*. Nessa medida, o estágio permitiu-me aperfeiçoar algumas qualidades, entre elas a capacidade de comunicação com o utente, resiliência e autonomia.

3.4 Threats (Ameaças)

3.4.1 Quebra no stock dos medicamentos

Apesar da ótima gestão de *stocks* realizada na Farmácia do Cavaco, que nos permitia continuar a disponibilizar medicação mesmo aquando da ocorrência de uma rotura de *stock*, quando a rotura era de longa duração não era possível satisfazer as necessidades dos utentes. As roturas de *stocks* nos laboratórios e fornecedores são, portanto, alheias à farmácia tendo o farmacêutico de explicar pacientemente essa situação ao utente.

3.4.2 Informação não verificada disponível na *internet*

Algumas vezes os utentes dirigiam-se à farmácia e solicitavam determinado produto, mas quando questionados sobre a situação para a qual necessitavam do produto, muitas vezes constatamos que o fármaco não seria o mais indicado, e após algumas questões acabavam por confessar que leram na *internet*. Alguns dos utentes após explicações acabavam por levar um produto recomendado para a situação, mas nem todos ficavam convencidos pois queriam apenas o produto que viram na *internet* ou alguém lhes aconselhou porque já usava acabando por não levar nenhum.

4. Conclusão

O MICEF fornece-nos uma base teórica multifacetada, enquanto o estágio permite-nos consolidar esses conhecimentos e adquirir outros novos.

O estágio curricular é parte fundamental na formação de um farmacêutico na medida em que nos permite o primeiro contacto com a realidade da profissão de forma guiada, por um profissional experiente, permitindo-nos também o contacto próximo com o utente, preparando-nos desta forma, para que possamos ingressar seguros e mais confiantes no mundo do trabalho.

O estágio na Farmácia do Cavaco foi uma experiência enriquecedora tanto a nível profissional, como pessoal, contribuindo para a minha evolução não só a nível de conhecimentos teóricos farmacêuticos, mas também de soft skills, muito úteis e necessárias para o desempenho da minha atividade profissional.

5. Casos Práticos

Caso 1

Homem, na casa dos 40 anos, trabalha numa metalurgia.

Dirige-se à farmácia pois procura um creme facial para uso diário que resolva a vermelhidão que apresenta no rosto. O utente apresentava um eczema e após algumas perguntas foi possível perceber que a vermelhidão agravava com a exposição a agentes agressores com que contactava no trabalho. Assim aconselhei ao utente o creme TOPIALYSE Barrière® da SVR que cria uma barreira reparadora anti-prurido e anti-irritação. Expliquei ainda ao utente que é fundamental limpar antes de proteger e que o deveria fazer com um produto sem sabão e a pH fisiológico. O utente na visita seguinte agradeceu pois já não apresentava nem eczema nem vermelhidão e que notou a sua pele mais saudável desde que utiliza o creme.

Caso 2

Mulher, 60 anos, dirige-se à farmácia pois possui má circulação nos membros inferiores, sentindo-os muito pesados. Refere ainda que a situação costuma agravar-se no verão, mais ainda nos dias de calor. Já tinha recorrido ao Daflon® 1000mg no verão anterior, mas não sentira melhorias. Assim recomendei FisioVen bioGel® que contém extratos liofilizados de

azevinho, Castanheiro-da-índia, extratos hidroalcoólicos de videira vermelha e centelha asiática, para aplicar duas vezes por dia (de manhã e à noite) massajando até absorção. Este gel para além das suas propriedades possui ainda uma ação refrescante conferida pelo óleo essencial de hortelã, levando a um alívio imediato da sensação de peso. Recomendei ainda FisioVen Plus[®] cápsulas, 1 cápsula 2 vezes por dia.

Caso 3

Rapaz, na casa dos 25 anos, dirige-se à farmácia e solicita Daflon[®] 1000mg para uma crise hemorroidária. Em conversa consegui perceber que solicitou Daflon[®] uma vez que já utilizou em crises anteriores e sentiu melhorias. Cedi então o Daflon[®] 1000 mg, recomendando ainda banhos de assento frios ou colocar gelo mantendo movimentos circulares (uma vez que se tratava de uma hemorroide externa) que ajudarão a diminuir o edema mencionado pelo utente. Cedi ainda neo FiteroiD[®] biopomada à base de complexos vegetais que irá contribuir para o alívio da dor, ardor e prurido protegendo a mucosa. Tomei ainda a iniciativa de recomendar algumas medidas não farmacológicas para evitar futuras crises, a manutenção de fezes moles através da ingestão de fibras e aumento da ingestão de fluidos, evitar alimentos muito condimentados ou picantes, realizar exercício físico e evitar períodos prolongados em posição ereta ou sentada.

Caso 4

Senhor, 50 anos, solicita ajuda pois espirra frequentemente e encontra-se com o nariz congestionado devido ao pólen, procura algo que não lhe provoque sonolência.

Aconselhei Telfast[®] 120mg (fexofenadina) em comprimido, um anti-histamínico sem efeito sedativo, com a posologia de um por dia antes das refeições. Aconselhei ainda água do mar hipertónica para proporcionar a descongestão nasal. Explicando ao utente que para lavagem nasal diária deveria utilizar uma água do mar isotónica uma vez que possui a mesma concentração de sais que a mucosa nasal. Mas que nesta situação era indicada uma hipertónica pois devido à sua concentração superior em sais conseguia por osmose, equilibrar o excesso de água e tornar o muco mais fluido, reduzindo a inflamação, aliviando assim a congestão nasal.

Caso 5

Mulher, 55 anos, solicita algo que lhe alivie a comichão que sente na zona íntima. Em conversa com a utente tentei perceber se seria alergia de contacto ao material da roupa interior, ou algum novo detergente da roupa e ainda quais os hábitos de higiene íntima da utente. A utente já usava saforelle[®] na sua lavagem diária, e no desenrolar da conversa

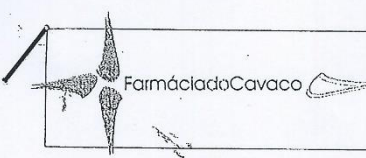
questionou-se se seria do detergente pois o marido também apresentava comichão. Questionei de algum dos dois apresentava “bolhinhas” ao qual a utente respondeu afirmativo para o caso do marido. Assim expliquei à utente que deveria manter os corretos hábitos de higiene que já possuía e que a comichão era devida a uma candidíase, uma infeção fúngica vaginal causada maioritariamente pelo fungo *Candida albicans*. Aconselhei um tratamento com um antifúngico local, Candiset® (medicamento não sujeito a receita médica) que contém 20mg/g de clotrimazol. Explicando que a senhora deveria introduzir o aplicador cheio de creme o mais profundamente na vagina à noite, ao deitar, durante 3 dias consecutivos. Por sua vez o senhor deveria usar o mesmo creme aplicando a noite ao deitar, mas apenas com a mão sem utilizar qualquer aplicador. A utente foi ainda alertada para um comportamento sexual responsável durante o tratamento, e advertida para o facto de o creme poder danificar os preservativos e diafragmas.

6. Referências Bibliográficas

1. Outras Áreas Profissionais - Áreas Profissionais - Ordem dos Farmacêuticos - [Consult. 21 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/outras-areas-profissionais>
2. A Farmácia Comunitária - Farmácia Comunitária - Áreas Profissionais - Ordem dos Farmacêuticos - [Consult. 21 ago. 2022]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria>
3. Daflon 1000mg RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO - [Consult. 27 ago. 2022]. Disponível: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
4. Telfast 120mg RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO - [Consult. 27 ago. 2022]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
5. Candiset 20mg RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO - [Consult. 27 ago. 2022]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>

Anexos

Anexo I

 Farmácia do Cavaco	Ficha de Preparação de Medicamentos Manipulados	Página 1 de 3
--	--	---------------

Medicamento: Solução alcoólica de ácido bórico a 60%

Teor em substância (s) activa (s): 100 g (ml ou unidades) contém 6 g (~~ml~~) de ácido bórico

Forma farmacéutica: Solução alcoólica
Data de preparação: 18/05/2022

Número do lote: _____
 Quantidade a preparar: 100ml

Matérias-primas	Lote nº	Origem	Quantidade para 100 g (ou ml, ou unidades)	Quantidade calculada	Quantidade pesada	Rubrica do Operador e data	Rubrica do Supervisor e data
<u>Ácido Bórico</u>	<u>P1957367</u>	<u>LABchem</u>	<u>6g</u>	<u>6g</u>	<u>6g</u>		
<u>Água Purificada</u>	<u>S96CPO3321</u>	<u>Dimor</u>	<u>37,5ml</u>	<u>37,5ml</u>	<u>37,5ml</u>		
<u>Alcool 96%</u>	<u>17CA34DA</u>	<u>TAO LAB</u>	<u>62,5ml</u>	<u>62,5ml</u>	<u>62,5ml</u>		

Preparação
Rubrica do Operador

1. <u>tarar a balança</u>	
2. <u>PESAR as matérias primas</u>	
3. <u>Preparar o alcool a 60°</u>	
4. <u>ADicionar o ácido bórico ao alcool a 60°</u>	
5. <u>Deixar repousar 1 Hora</u>	
6. <u>Defantar</u>	
7. <u>Adicionar ao frasco cont. gotas de vidro amber</u>	
8. <u>Rotular</u>	

Embalagem

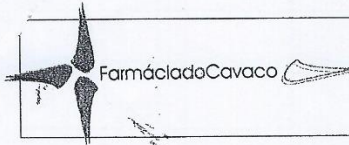
Tipo de embalagem: vidro amber, frasco cont. gotas

Capacidade do recipiente:

Material de embalagem	Nº do lote	Origem
<u>vidro amber</u>		<u>ecoprofar</u>

Operador: _____

IMP.10.1



Prazo de utilização e Condições de conservação

Condições de conservação: Operador: _____
Conservar à temperatura ambiente

Prazo de utilização: Operador: _____
1 mês após a preparação

Verificação

ENSAIO	ESPECIFICAÇÃO	RESULTADO	Rubrica do Operador
<i>Características organolépticas</i>			
<i>cor</i>	<i>Incolor</i>	<i>conforme</i>	
<i>odor</i>	<i>característico</i>	<i>conforme</i>	
<i>aspeto</i>	<i>transparente / limpo</i>	<i>conforme</i>	
<i>Quantidade dispensada</i>	<i>100 ml</i>	<i>100 ml</i>	

Aprovado Rejeitado

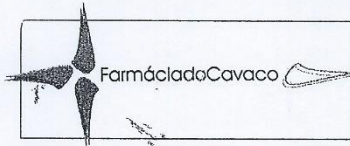
Supervisor: _____ *18/5/2022*

Nome, morada e telefone do doente

Nome do prescriptor

Anotações

3 gotas, 1 x / Dia , 2 Semanas



Cálculo do preço de venda

MATÉRIAS-PRIMAS:

matérias-primas	embalagem existente em armazém		preço de aquisição de uma dada quantidade unitária (s/IVA)		quantidade a usar	factor multiplicativo	valor da matéria-prima utilizada na preparação
	quantidade adquirida	preço de aquisição (s/IVA)	quantidade unitária	preço			
Ácido Bórico	100g	1,92	1	0,019	x 6	x 2,2	= 0,2508
Alcool 96%	250ml	3,80	1	0,015	x 62,5	x 2,5	= 2,34375
Água Purificada	1000ml	1,10	1	0,0011	x 37,5	x 2,5	= 0,103125
					x	x	=
					x	x	=
subtotal A							2,697675

HONORÁRIOS DE MANIPULAÇÃO:

	forma farmacéutica	quantidade	F (€)	factor multiplicativo	valor
valor referente à quantidade base	Solução	100ml	5,05	x 3	= 15,15
valor adicional	alcoólica		X	x	=
subtotal B					15,15

MATERIAL DE EMBALAGEM:

materiais de embalagem	preço de aquisição (s/IVA)	quantidade	factor multiplicativo	valor
vidro amber conta-gotas	1,441	X 1	x 1,2	= 1,7292
		X	x 1,2	=
subtotal C				1,7292

PREÇO DE VENDA AO PÚBLICO DO MEDICAMENTO MANIPULADO:

(A + B + C) x 1,3	25,4499
+ IVA	6*
D	26,98

DISPOSITIVOS AUXILIARES DE ADMINISTRAÇÃO:

Dispositivo	Preço unitário	quantidade	valor

E _____

PREÇO FINAL: D + E 26,98

Operador: _____

Supervisor: _____

Anexo 2



Farmácia do Cavaco

Dir. Técnica Dra. Olívia Gomes

Tel: 256378074

Solução alcoólica de ácido Bórico

Posologia: 3 gotas, 1x por dia, 2 semanas

Preparado em 18 de Maio de 2022

Pode usar até: 1 meses após a data de preparação.

Conservar a temperatura ambiente na embalagem bem fechada e proteger da luz.

Manter fora do alcance das crianças.

USO EXTERNO

Parte II

Relatório de Estágio em Investigação

Centro de Neurociências e Biologia Celular



**CENTER FOR NEUROSCIENCE
AND CELL BIOLOGY**
UNIVERSITY OF COIMBRA
PORTUGAL

Orientado pela Doutora Cátia Moreira de Sousa

Lista de Abreviaturas

CNC - Centro de Neurociências e Biologia Celular, Universidade de Coimbra

EC - extratos celulares

LPS - Lipopolissacarídeo (proveniente de bactérias Gram negativas)

MICF - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

SPF - Sociedade Portuguesa de Farmacologia

UN - Untreated Cells ou células não tratadas

I. Introdução

A investigação científica é uma área de extrema importância, pois permite que o conhecimento avance não só através da testagem de novas teorias, mas também através da compilação de informação em revisões permitindo uma constante atualização de conhecimentos. A investigação direcionada para a saúde permite, ainda, colmatar lacunas existentes no sistema de saúde. Muitos são os farmacêuticos que trabalham nacional ou internacionalmente nesta área que tem crescido, inclusive no nosso país. ¹

No âmbito da unidade curricular Estágio, tive a oportunidade de realizar um estágio com a duração de 3 meses no grupo de Neuroendocrinologia e Envelhecimento e no sub-grupo Inflamação crónica no envelhecimento e doença, liderados pela Professora Doutora Cláudia Cavadas e pela Professora Doutora Alexandrina Ferreira Mendes, respetivamente, pertencentes ao Centro de Neurociências e Biologia Celular, Universidade de Coimbra (CNC). ^{2;3}

O CNC foi criado em 1990 e classifica-se como “uma instituição científica que visa fomentar a investigação biomédica e o ensino pós-graduado multidisciplinar na Universidade de Coimbra”. ⁴

No CNC, trabalham investigadores de diversas áreas (farmácia, medicina, ciências e tecnologias...), que visam investigar, estimular o empreendedorismo, ensinar e ainda envolver a sociedade e promover uma cultura científica. O CNC dinamiza imensas atividades de promoção de cultura científica através das suas redes sociais, bem como em escolas e ainda, através da realização de eventos. Em termos estruturais, este centro possui 35 grupos de investigação nas mais diversas áreas, sendo que parte deles integram subgrupos.

Num estágio de investigação, visualiza-se e realizam-se diversas técnicas laboratoriais. O que distingue este estágio de outro estágio laboratorial, é o facto de sermos contextualizados nos projetos de investigação, para os quais realizamos trabalho laboratorial dentro do mesmo contexto e com um objetivo específico. Portanto, torna-se num estágio ainda mais enriquecedor para a formação como farmacêuticos.

Este estágio permitiu-me adquirir novos conhecimentos sobre a investigação na área da saúde, novos projetos de investigação, bem como consolidar conhecimentos obtidos no Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) e adquirir outros tantos.

O balanço do estágio será apresentado sobre a forma de análise SWOT.

2. Análise SWOT

2.1 Strengths (Pontos Fortes)

2.1.1 Bem recebida pelo grupo

Ao chegar ao estágio, fui extremamente bem recebida pelo grupo de investigação e integrada em todas as atividades, reuniões e trabalhos. A simpatia de todas as professoras e investigadoras foi, sem dúvida, uma mais-valia para que pudesse tirar o máximo proveito do estágio, colocar questões, esclarecer dúvidas e adquirir novos conhecimentos.

2.1.2 Contacto com vários projetos e várias técnicas laboratoriais

Tive a oportunidade de contactar com várias investigadoras que desenvolvem trabalhos de investigação em diferentes áreas (senescência da pele, alterações metabólicas, inflamação...). Previamente antes de acompanhar os trabalhos laboratoriais fui contextualizada sobre o tema de cada projeto, no âmbito do qual os trabalhos iam decorrer, o que cada técnica a realizar pretendia avaliar e como traduzir os resultados das técnicas em conclusões para o projeto. Foi, sem dúvida, um ponto positivo na medida em que me permitiu observar diferentes técnicas e ainda a aplicação de uma mesma técnica com diferentes objetivos ou em diferentes linhas celulares.

2.1.3 Plano de estágio

A forma como o estágio foi estruturado foi um ponto forte, pois consegui perceber primeiro em que consistia cada técnica, depois acompanhar a aplicação da mesma no laboratório, perceber pontos críticos de cada uma que influenciam resultados, e ainda, analisar os resultados obtidos no final. Tendo um seguimento e ordem lógica, a aprendizagem realizada neste estágio foi de muito mais fácil aquisição e compreensão.

2.1.4 Apresentação dos trabalhos realizados: a estagiárias e ao grupo de investigação

Para além de mim, durante parte do meu estágio, estiveram também presentes colegas estudantes do MICEF a realizar estágio extracurricular. Tive a oportunidade de as ir contextualizando nos trabalhos laboratoriais que não acompanharam devido à frequência de aulas. Tive ainda oportunidade de apresentar na reunião semanal do grupo de investigação, no

final do estágio, o trabalho observado e desenvolvido ao longo deste, bem como a sua análise SWOT.

2.1.5 Aplicação prática dos conhecimentos adquiridos no estágio

Para além da observação de várias atividades laboratoriais, foi-me ainda possível colocar em prática algumas destas atividades, sob a orientação da professora. As atividades que tive oportunidade de realizar foram as seguintes: aplicar estímulos às células, realizar um ensaio de viabilidade, fazer extratos celulares (EC), determinar a quantidade de proteína nos EC, preparar amostras para western blot e realizar técnica western blot. Os resultados obtidos encontram-se em Inexo.

2.1.6 Construção de um caderno de laboratório

Todas as técnicas e protocolos observados foram redigidos, bem como todas as dicas úteis à realização das mesmas. Sendo que, posteriormente, todo o material foi reunido num caderno de laboratório para referência futura.

2.2 Weaknesses (Pontos Fracos)

2.2.1 Altura de pouco trabalho no laboratório

O número de pessoas a realizar apenas trabalho laboratorial era muito baixo. Dado que o meu estágio decorreu de janeiro a março (o que inclui uma época de exames), as professoras que dividem o tempo entre aulas e investigação não tinham tanta disponibilidade para realizar trabalho laboratorial, não podendo, por isso, acompanhar tantos trabalhos nessa altura.

2.2.2 Duração do estágio

A duração máxima definida para estágios (à exceção do estágio em farmácia comunitária) é de apenas 3 meses, o que em investigação é um tempo muito reduzido, mesmo que queiramos ou nos seja dada a possibilidade de desenvolver trabalho nosso, o fator duração do estágio inviabiliza essa opção.

2.3 Opportunities (Oportunidades)

2.3.1 Aplicação dos conhecimentos adquiridos no MICF e aquisição de novas competências

Muitas das técnicas laboratoriais são abordadas no MICF de forma teórico-prática. Neste estágio, apliquei e aprofundei conhecimentos do MICF, mais concretamente observando técnicas das quais tinha a base teórica sendo agora complementada com a visualização da técnica na prática. Para além disso, visualizei novas técnicas e integrei o conhecimento que adquiri ao longo do curso de uma forma bastante mais eficaz.

2.3.2 Participação na Reunião Anual da Sociedade Portuguesa de Farmacologia (SPF)

A SPF 2022 realizou-se no porto e foi-me dada a oportunidade de acompanhar o grupo de investigação à mesma, onde não só pude ouvir as apresentações do grupo, como também de outros grupos de investigação de diversas faculdades e com diferentes temas de investigação dentro da área da farmacologia.

2.3.3 Dicas e conhecimentos úteis para o futuro

Pessoalmente, possuo um gosto enorme pela investigação, caso o futuro permita enveredarei por esta área. Nessa perspetiva, aprendi imensas dicas práticas que fazem a diferença quando se realiza trabalho laboratorial, pois não se trata apenas de saber executar técnicas e seguir protocolos. Existem também pequenos pormenores que, nem sempre nos saltam à vista, mas que são cruciais para um bom resultado final.

2.3.4 Realização de pesquisas sobre técnicas laboratoriais

Com a realização do estágio, foi-me dada oportunidade de realizar pesquisas e aprofundar o meu conhecimento teórico sobre técnicas laboratoriais abordadas com menor profundidade no MICF. Este estágio tornou-se, por isso, uma grande oportunidade para autonomamente pesquisar mais sobre várias técnicas e perceber o impacto que o conhecimento do fundamento teórico das mesmas pode ter na prática. Com ajuda e orientação da professora, que após esse trabalho autónomo me permitia apresentá-lo e discuti-lo, consegui preencher as lacunas que o meu trabalho tinha e aprofundar mais pormenorizadamente alguns pontos. Foi sem dúvida, uma das maiores oportunidades que tive para expandir o meu conhecimento em técnicas utilizadas em investigação.

2.4 Threats (Ameaças)

2.4.1 COVID-19

A COVID-19 teve um impacto negativo neste estágio, uma vez que já havia poucas investigadoras a realizar trabalho laboratorial nesta época mas, com a vaga de COVID, muitas foram obrigadas a ficar em isolamento, reduzindo ainda mais o número de pessoas no laboratório.

2.4.2 Alguns conhecimentos menos presentes

Uma vez que o MICF é um curso de cinco anos, senti que conhecimentos adquiridos nos primeiros 2 anos do curso, que eram úteis, estavam ligeiramente menos presentes, como por exemplo as áreas de imunologia e bioquímica. No entanto, foi uma ótima oportunidade para recordar conhecimentos.

2.4.3 Mestrado Integrado e Caminho para investigação

No MICF, embora tenhamos bastantes práticas laboratoriais, estas apenas são suficientes para cobrir superficialmente algumas técnicas laboratoriais. Muitas unidades curriculares são apenas teórico-práticas faltando-nos por isso prática a realizar muitas técnicas de forma autónoma ou, pelo menos, visualizar presencialmente como são realizadas. Assim, na maioria das vezes, os alunos de MICF que pretendem seguir investigação têm de realizar estágios extracurriculares ou perder imenso tempo a aprender técnicas no início da sua carreira de investigação, sendo por isso mais difícil o acesso destes alunos à investigação.

3. Conclusão

É do conhecimento geral que a formação de um farmacêutico é multidisciplinar, conferindo-lhe conhecimentos que lhe permitem integrar e trabalhar em diversas áreas. Aprofundar conhecimentos dentro das áreas de interesse futuro é algo extremamente relevante para que possamos adaptar-nos ao mercado de trabalho e à área em que desejamos prosseguir com maior facilidade e mais capacidades.

Durante estes 3 meses de estágio no CNC, foi possível perceber o contexto e o objetivo de vários trabalhos de investigação bem como a realização dos trabalhos laboratoriais integrantes desses mesmos projetos. Quando existe a possibilidade de aprender em contexto

real, é possível aprender conhecimentos de uma forma mais fácil e natural. Como aluna sempre aprendi imenso por observação, por isso, este estágio foi enriquecedor, na medida em que pude acompanhar as investigadoras e visualizar os seus dias de trabalho tanto na bancada como fora dela. Para além disso, tive ainda a oportunidade de realizar algumas técnicas laboratoriais e pesquisas sobre técnicas e, assim, aplicar conhecimentos adquiridos no estágio.

Em suma, ter a oportunidade de realizar parte do estágio curricular numa área diferente da área de farmácia comunitária, mas na qual o farmacêutico também tem um papel muito importante, é algo enriquecedor para a formação como futura farmacêutica. Com este estágio, adquiri conhecimentos que me serão uteis não só na área de investigação, mas também em outras áreas nas quais possa futuramente trabalhar.

4. Referências Bibliográficas

1. **Investigação Científica - Áreas Profissionais - Ordem dos Farmacêuticos** - [Consult. 24 mar. 2022]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/investigacao-cientifica>
2. **CNC** - [Consult. 24 mar. 2022]. Disponível em: <https://www.cnc.uc.pt/pt/research-group/inflamacao-cronica-no-envelhecimento-e-doenca>
3. **CNC** - [Consult. 24 mar. 2022]. Disponível em: <https://www.cnc.uc.pt/pt/research-group/neuroendocrinologia-e-envelhecimento>
4. **CNC Centro de Neurociências e Biologia Celular | CNC UC** - [Consult. 24 mar. 2022]. Disponível em: <https://www.cnc.uc.pt/pt>
5. **Cell Viability Assays - Assay Guidance Manual - NCBI Bookshelf** - [Consult. 22 jul. 2022]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK144065/>
6. COPELAND, Robert A. - Methods for Protein Quantitation. Em **Methods for Protein Analysis** Springer, Boston, MA, 1994 [Consult. 22 jul. 2022]. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4757-1505-7_3>. p. 39–58.
7. OTIENO, B. A.; KRAUSE, C. E.; RUSLING, J. F. - Bioconjugation of Antibodies and Enzyme Labels onto Magnetic Beads. **Methods in Enzymology**. ISSN 0076-6879. 571:2016) 135–150. doi: 10.1016/BS.MIE.2015.10.005.
8. **Overview of Western Blotting | Thermo Fisher Scientific - PT** - [Consult. 22 jul. 2022]. Disponível em: <https://www.thermofisher.com/pt/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/overview-western-blotting.html>

Anexo

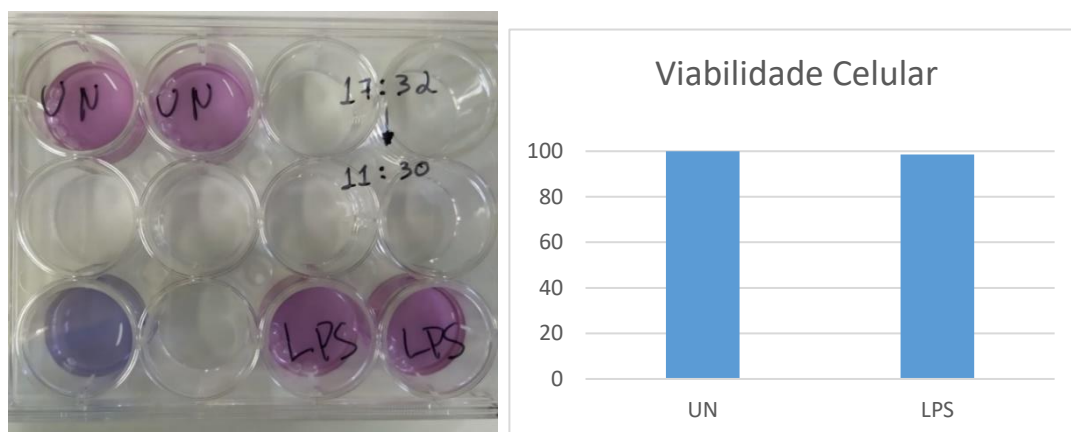


Figura 1- Avaliação da viabilidade celular através do ensaio de redução da resazurina

Para determinar a viabilidade celular, foi utilizado o ensaio de redução da resazurina. A resazurina possui uma cor azul-escura, sendo reduzida pelas células viáveis a resorufina, que possui uma coloração cor-de-rosa e fluorescência. A resorufina pode ser lida num espectrofotômetro a 570nm e retirado o background ou pode ainda ser lida num fluorômetro uma vez que possui fluorescência (560nm excitação, 590nm emissão). As células depois deste ensaio podem ser usadas para outras experiências.⁵

As células foram tratadas com lipopolissacarídeo (LPS, 1 µg/mL) durante 24h. Ao fim desse período, adicionou-se a resazurina e, ao fim de 90 min, realizou-se a leitura de absorvância a 570 e 620nm.

Os resultados obtidos demonstraram que o LPS não induziu alteração da viabilidade quando comparado com o respetivo controlo, ou seja, células não tratadas ou untreated cells (UN).



Figura 2 - Determinação da quantidade de proteína presente em EC pelo método do Ácido Bicinchonínico (BCA)

O método do Ácido Bicinchonínico (BCA) baseia-se na redução de cobre (II) a cobre (I) em condições básicas, sendo a quantidade de cobre reduzido proporcional à quantidade de proteína presente na solução. Duas moléculas de BCA quelam uma molécula de cobre (I), alterando a cor de verde para roxo. Esta coloração roxa possui absorvância a 562nm. A quantidade de proteína pode ser estimada utilizando uma curva padrão de uma proteína com concentração conhecida, neste caso a Albumina Bovina Sérica (BSA).^{6;7}

A determinação da quantidade de proteína nos EC tem como objetivo calcular o volume de EC equivalente a uma determinada massa de proteína, neste caso 25µg, de modo a utilizar a mesma quantidade na técnica do Western Blot.

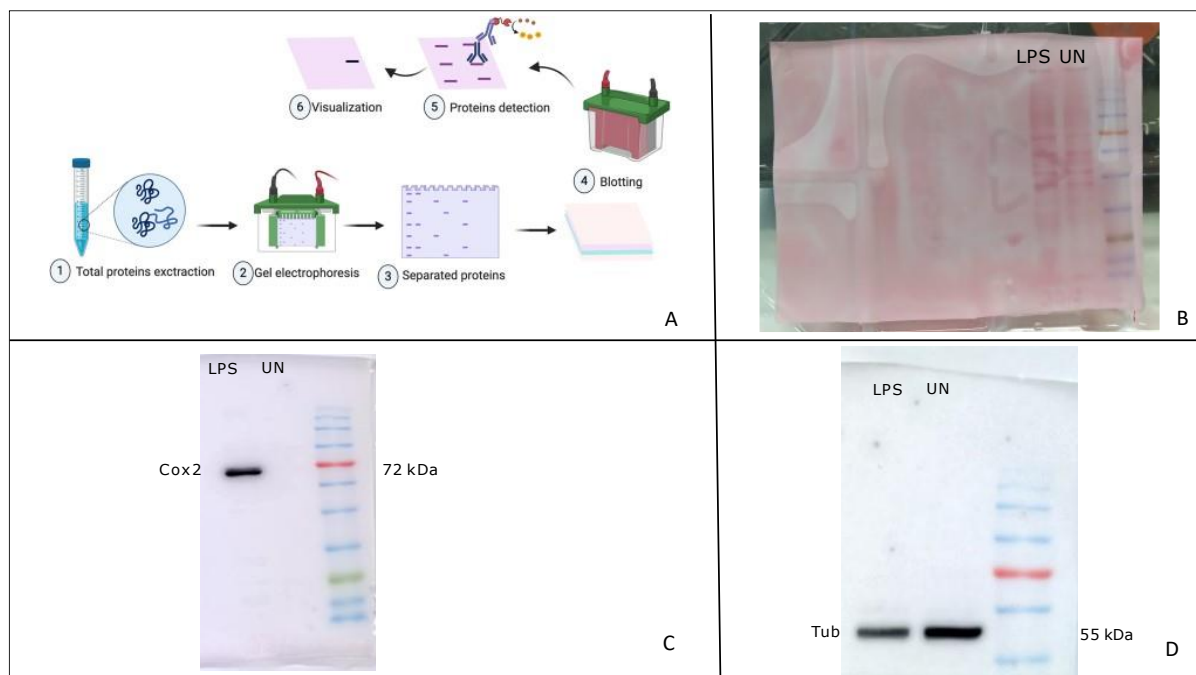


Figura 3 - Western blotting e resultados

A - Esquema da técnica de western Blot: Western blotting usa anticorpos para identificar proteínas específicas, para isso inicialmente as proteínas são separadas pelo peso molecular através de eletroforese separados e posteriormente são transferidas para uma membrana. A especificidade da interação anticorpo-antígeno permite que uma proteína alvo seja detetada numa mistura complexa de proteínas, como por exemplo um lisado de células ou tecidos.⁸

B - Membrana corada com Ponceau S, após corrida de eletroforese e eletrotransferência (para a membrana)

C - Revelação da membrana por quimioluminescência para a proteína Cicloxigenase 2 (COX2)

D - Revelação da membrana por quimioluminescência para a proteína Tubulina I (TUB)

Conclusão: Com base nesta experiência, pode-se inferir que o estímulo com LPS não pareceu interferir com a viabilidade celular dos macrófagos, quando comparado com o respetivo controlo. Para além disso, este estímulo induziu a expressão da COX2, quando comparado com as células não tratadas. As diferenças observadas na técnica do Western blotting entre células não tratadas e células tratadas com LPS não são devidas a diferenças de proteína, como se pode observar pela marcação para a TUB. No entanto, esta experiência deveria ser repetida, pelo menos, mais duas vezes para se poder retirar conclusões mais robustas.

Parte III

Monografia

“Sirtuin-3 (SIRT3) as a therapeutic target in cancer”

Orientada pela da Professora Doutora Alexandrina Ferreira Mendes

Lista de Abreviaturas

Acetyl-CoA - Acetyl-coenzyme A

AKT - A serine/threonine kinase also called protein kinase B (PKB)

ATM - Ataxia-telangiectasia mutated gene

ATP - Adenosine triphosphate

CDT1 - Chromatin licensing and DNA replication factor I

DLBCL - Diffuse large B-cell lymphoma

DLBCLs - Diffuse large B-cell lymphomas

DNA - Deoxyribonucleic acid

ER - Estrogen receptor

ESCC - Esophageal squamous cell carcinoma

FDG-PET - fluorodeoxyglucose positron emission tomography

FOXO3 - Forkhead box O3a

GCT - Granulosa cell tumor

GSK-3 β - Glycogen synthase kinase 3 beta

MnSOD - Manganese-dependent Superoxide dismutase

MTHFD2 - mitochondrial methylenetetrahydrofolate Dehydrogenase (NADP+ Dependent)²

NADPH - Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NOS1 - Nitric oxide synthase I

NSCLC - Non-small cell lung cancer

OXPPOS - Oxidative phosphorylation

PGC-1 α - Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha

PPAR- α - Peroxisome proliferator-activated receptor alpha

PPAR- γ - Peroxisome proliferator-activated receptor gamma

PPAR- δ - Peroxisome proliferator-activated receptor-delta

RIPK - Receptor interacting serine/threonine protein kinase

ROS - Reactive Oxygen Species

SCLC - Small-cell lung cancer

SHK - Shikonin

SNPs - Single nucleotide polymorphisms

SOD2 - Super Oxide Dismutase 2

TCA - Tricarboxylic acid cycle or Krebs cycle

UTMD - Ultrasound targeted micro-bubble destruction

WHO - World Health Organization

Resumo

SIRT3 é uma desacetilase dependente de NAD⁺, localizada na mitocôndria. Está envolvida na regulação do metabolismo da glicose, dos lípidos e dos aminoácidos e na homeostase mitocondrial em condições de stresse oxidativo e na resposta a *unfolded proteins*. Consequentemente está intimamente relacionada com o desenvolvimento e ocorrência de muitas doenças, em particular o cancro.

O cancro é uma doença caracterizada pelo crescimento descontrolado de células anormais, podendo surgir em qualquer tipo de tecido ou órgão. Atualmente, a incidência do cancro está a aumentar drasticamente. Contudo, a resistência a algumas das terapias existentes tem igualmente aumentado. Deste modo, urge encontrar novas terapias e soluções para a resistência às mesmas.

Esta monografia visa esclarecer o papel da SIRT3 no cancro, como marcador de prognóstico, na sensibilidade/resistência à quimioterapia e radioterapia e, finalmente, abordar os moduladores da SIRT3 como potenciais fármacos anticancerígenos.

Palavras-chave: SIRT3, Cancro, Resistência à quimioterapia, Resistência à radioterapia, Prognóstico, Moduladores da SIRT3.

Abstract

SIRT3 is a deacylase dependent on NAD⁺, located in the mitochondria. SIRT3 is involved in the regulation of glucose, lipid and amino acid metabolism, mitochondrial homeostasis under oxidative stress and the response to unfolded proteins. Because of that, it's closely related to the development and occurrence of many diseases, in particular cancer.

Cancer is a disease characterized by an uncontrollable growth of abnormal cells, it can start in any type of tissue or organ. Nowadays cancer is increasing drastically, unfortunately, resistance to some of the available therapies is also increasing, which urges us to find new therapies and solutions for therapy resistance.

This monograph aims to shed a light on SIRT3's role in cancer, as a prognosis marker, in sensitivity/resistance to chemotherapy and radiotherapy and finally SIRT3 modulators as potential anticancer drugs.

Keywords: SIRT3, Cancer, Chemoresistance, Radioresistance, Prognosis, SIRT3 modulators

I. Introduction

According to the World Health Organization (WHO), cancer is “a large group of diseases that can start in almost any organ or tissue of the body when abnormal cells grow uncontrollably”.¹ There are many types of cancer organized into two main categories: hematologic and solid cancers. The types of cancer have similarities but different ways to grow, spread, and be treated.^{2; 3} With the appearance of the hallmarks of cancer, distinguishing the phenotypes and genotypes was simplified. A hallmark is a specific molecular feature of cancer cells that allows us to distinguish them from normal cells.⁴ Nowadays eight hallmarks of cancer are accepted, these are: sustaining proliferative signaling, evading growth suppressors, resisting cell death, enabling replicative immortality, inducing/accessing vasculature, activating invasion and metastasis, reprogramming cellular metabolism, and avoiding immune destruction.⁵

In terms of numbers, according to WHO, cancer is the 2nd cause of death in the world. In 2018, one in six deaths were caused by cancer (an estimated 9.6 million deaths).¹ Recent data from 2020 show that cancer had an incidence of 19.3 million people and the same amount of deaths of 2018 (9.6 million).^{6; 7} The three most prevalent cancers in 2020 were breast, lung, and colorectum cancers. In the future, more precisely in 2040, the estimated incidence will be 30.2 million and 16.3 million deaths.⁶ Also, the prediction for 2040 indicates that the percentage of people that will die from cancer will be higher in 2040 than in 2020.

There are many types of cancer treatments nowadays, some more recent than others, being classified as pharmacological, surgical and radiological. Pharmacological therapies include chemotherapy, hormonal therapy, immunotherapy and cell therapy.

However, these treatments have a lot of side effects like anemia, leukopenia, gastrointestinal complications, mucositis, cardiovascular toxicity, dermatological and pulmonary problems and many more.^{8; 9} Additionally, some therapies lack effectiveness once patients relapse or develop resistance. The lack of effectivity depends on many factors, one of them being the stage of cancer. The earlier the diagnosis, the better chance for treatment success, but many cancers are not easy to diagnose early.³

The COVID-19 pandemic worsened the situation by decreasing cancer screenings relative to previous years. Thus, it is likely that in the next years the incidence of late-stage cancer diagnoses will increase more than was previously expected because of the lack of earlier and preventive screening.

With all that was previously stated it's possible to conclude that new pharmacological targets are needed, allowing the creation of more effective drugs with fewer side effects. To fight the numbers predicted for 2040 more research in this field is necessary, specifically the identification of new pharmacological targets and new drugs for cancer treatment.

2. Metabolism and cancer

The ability of cancer cells to alter their metabolism to support the increased requests of energy and structural resources, due to continuous growth, rapid proliferation, and other characteristics typical of neoplastic cells, is known as metabolic reprogramming. Metabolic reprogramming is one of the hallmarks of cancer recently identified, as previously mentioned.¹⁰ The energy production in mammalian cells is based on glycolysis and oxidative phosphorylation (OXPHO), these two processes are coupled and cooperate to supply energy. On glycolysis, glucose is converted into pyruvate and 2 molecules of ATP per molecule of glucose. When O₂ is available, under aerobic conditions, the pyruvate obtained on the glycolysis enters the tricarboxylic acid cycle (TCA) or Krebs cycle, coupling glycolysis, and OXPHO and producing 36 molecules of ATP. Without O₂, pyruvate is converted into lactate which is removed from the cell. In normal cells, up to 70% of the energy is supplied by OXPHO but in cancer cells, most of the energy comes from glycolysis even under aerobic conditions.¹¹

Due to the importance of metabolism in cancer proliferation, this subject has been studied for a long time. The first to describe cancer cells' preference for glycolysis was Warburg in 1920, thus called the "Warburg effect". Warburg showed that cancer cells have high levels of glucose uptake and lactate secretion, in the presence of O₂, suggesting that high rates of lactate secretion are required to support malignant cell proliferation. OXPHO is now known to be much more productive than glycolysis, so the reason that leads many proliferating cells to display the Warburg effect is still not fully understood.¹² Warburg attributed it to "an irreversible respiratory injury not only characterizing cancer but causing it".¹³ Recent studies show that the reason for the "Warburg effect" to happen is not mitochondrial dysfunction since aerobic glycolysis does not mean loss of oxidative metabolism. The "Warburg effect" is not universal to all proliferating cancer cells, but tumors that suppress pyruvate oxidation and produce lactate can still unblock their mitochondrial metabolism, since mitochondria have plastic behavior. Thus, tumors can rely on both glycolysis and mitochondrial respiration.^{12; 13}

Besides glucose, rapidly proliferating cells also use glutamine to supply energy demands and as a source of carbon and nitrogen, since glutamine is the most abundant amino acid in the body. Glutamine is converted to glutamate in glutaminolysis, then glutamate is reduced to

α -ketoglutarate, enters the TCA cycle and is further oxidized to supply the electron transfer chain, in alternative α -ketoglutarate experiences reducing carboxylation to produce citrate supporting lipid synthesis through Acetyl-coenzyme A (acetyl-CoA). Both mitochondrial oxidative phosphorylation and metabolic intermediates for the TCA cycle are supplied by glutamine, helping this way mediating the metabolic reprogramming.¹¹

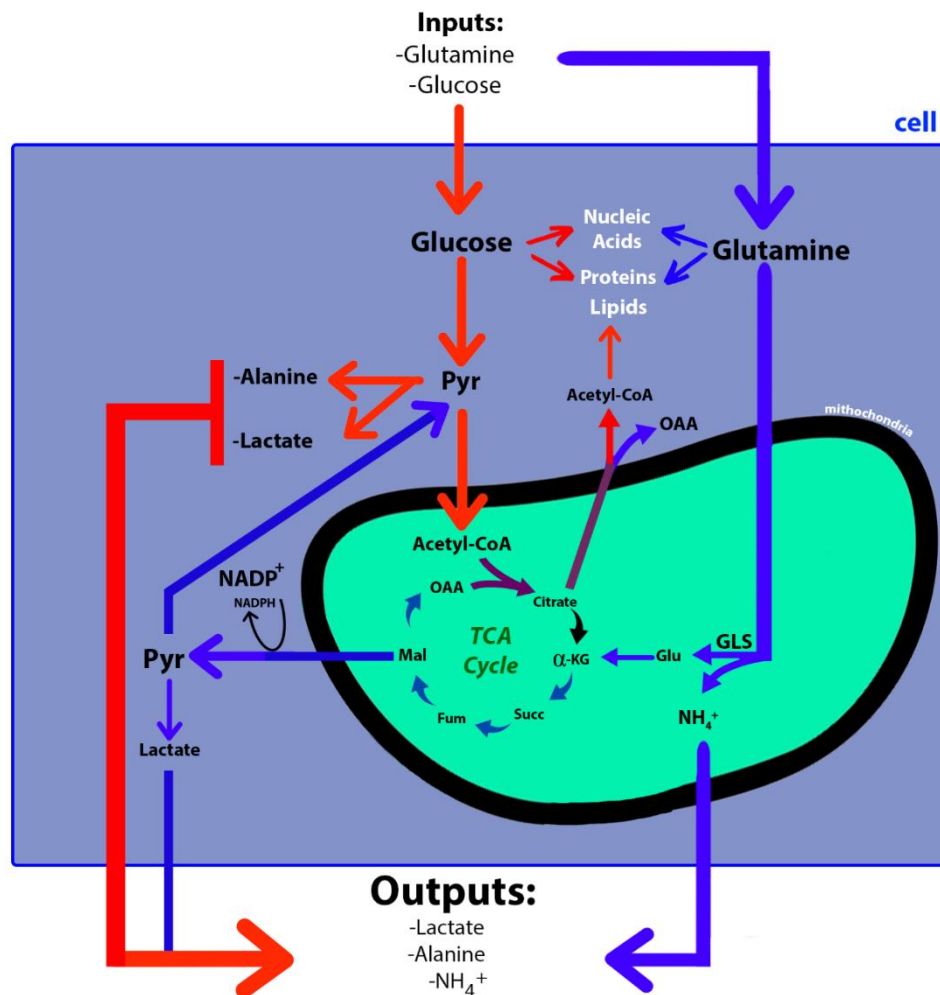


Figure 1 - Metabolism of glutamine and glucose Blue arrows represent glutamine's metabolism, red arrows represent glucose's metabolism and purple arrows represent the points on which glutamine and glucose metabolisms converge on the production of citrate.

Abbreviations: Fum - fumarate, GLS - glutaminase, Glu - glutamate, Lac - lactate, Mal - malate, NADPH - nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, Pyr - pyruvate Succ - succinate, TCA - tricarboxylic acid, α -KG - α -ketoglutarate.

Despite the “Warburg effect” not being universal to all proliferating cells, the ones that use this metabolic reprogramming take several advantages of it. Cancer cells depend on reversible metabolic changes to obtain the supply of energy that will allow them to gain a high degree of plasticity in proliferation, mobility, invasion, antioxidative responses, resistance to apoptosis, and evasion from the immune response.¹¹ The rapid glucose uptake and metabolism

feed non-mitochondrial pathways that contribute to macromolecular synthesis thus they provide “building blocks” for the needs of anabolism, contribute to the redox homeostasis, and make the microenvironment more favorable for tumor growth.^{11; 12} Glycolysis is pivotal to the anabolic requirements of rapidly proliferating malignant cells as it diverts the glucose to the oxidative branch of the pentose-phosphate pathway providing nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH), which maintains the antioxidative power of glutathione as well as providing glycine, and one-carbon equivalents to produce purine and pyrimidine nucleotides. The NADPH produced by glycolysis is capable of increasing the radioresistance of cancer cells and can act as a directly operating antioxidant in the mitochondrial compartment to circumvent the deleterious effect of reactive oxygen species (ROS) .^{11; 13} In addition to the pathways that were previously stated, other ones are also fed by the rapid glucose uptake. These pathways are often activated after oncogenic signaling, pathways like the hexosamine pathway (used for protein glycosylation), pentose-phosphate pathway (that produces ribose for nucleotides and NADPH to be used in the reductive biosynthesis), serine–glycine–one-carbon metabolism (required to feed glutathione, nucleotides and methylation reactions) and also the glycerol synthesis (for the production of complex lipids).¹²

Tumor metabolic reprogramming is complex and involves many factors. Usually, metabolic reprogramming is a conjugation of the activity of oncogenes, tumor suppressors, and tumor microenvironments. It's now known that the tissue of origin influences metabolic reprogramming since different tissues have specific metabolic phenotypes before the reprogramming occurs.^{14; 15} Because of that, tumors should be classified according to the tissue of origin instead of the oncogenic driver because both the cancer-driving mutations and the tissue of origin set specific metabolic features for the tumor. Therefore, the tissue of origin is one of the factors that drive metabolic heterogeneity of cancer. The hallmark of metabolic reprogramming is connected to the idea that the oncogenes that are responsible for tumor initiation, are also responsible for the acquired metabolic properties that support the high energy demand of cancer cells and their ability to avoid immune surveillance and have their characteristic plastic growth. Despite the significant role of oncogenes in metabolic reprogramming, it's not clear if oncogenic mutations are truly necessary to establish the metabolic properties that feed the energy needs, allowing tumor initiation and progression. It's also possible that some cancers arise from inborn errors of metabolism instead of being driven by oncogenes.^{11; 14; 15}

Furthermore, metabolic needs change with cancer progression; therefore, the process used for supplying energy needs to change as well. Increasing studies are theming on the fact

that as cancers progress, they also increase their reliance on oxidative phosphorylation (OXPHOS) to get energy. However, it's not clear why cells acquire this dependence on OXPHOS while they progress and it isn't also clear if the mechanism is the same in different contexts. For sure this is a theme that deserves further study once it appears in diverse preclinical models, therefore implying a certain degree of generalization.

To conclude, current knowledge of cancer metabolism assures that it is a theme worth more research, once more and more articles support metabolic reprogramming as therapeutically relevant, and also as a possible screening biomarker for early-stage lesions.¹⁴

A new cancer treatment might come from targeting one-carbon metabolism which provides the “building blocks” that cells require for DNA synthesis, or by inhibition of OXPHOS or glycolysis, depending on the type of tumor and the process they rely on the most. Another opportunity, even though rare, is intervening in genetically defined metabolic alterations that contributed to the transformation. It's also possible to find more therapeutic opportunities through the study of the impact of metabolic reprogramming on therapy resistance.^{11; 14}

The important thing to consider in all these therapeutic possibilities is that we need to identify the patients that will most likely benefit from the drugs, which is difficult to do with the metabolic heterogeneity that characterizes different tumors. So, it's also urgent to find better biomarkers that predict therapeutic responses and make advances in metabolic phenotyping of the tumors so the therapeutic utilities of metabolic reprogramming can be truly useful.¹⁴

3. Sirtuin 3: physiological functions and role in cancer

Sirtuins are a family of protein deacylases dependent on NAD⁺, belonging to class III histone deacylases. The dependence on NAD⁺ makes a distinction between deacylases families.^{16; 17; 18}

SIRT3 is mainly located in the mitochondria and is involved in the regulation of glucose, lipid and amino acid metabolism, mitochondrial homeostasis under oxidative stress and the response to unfolded proteins.^{16; 18; 19} In order to maintain redox homeostasis and metabolic quota, SIRT3 is transported to the mitochondrial nucleus.²⁰ In terms of unfolded protein response, a process responsible for neutralizing and controlling the aggregation and accumulation of misfolded proteins, it involves three molecules located in the mitochondria (SIRT3/FOXO3/SOD2). SIRT3 deacetylates Forkhead box O3a (FOXO3), inducing its nuclear

translocation and the expression of its target genes which include Super Oxide Dismutase 2 (SOD2) and catalase, consequently activating the antioxidant response.²¹ Because of what was previously mentioned, this deacetylase is also associated with longevity in humans and it's closely related to the development and occurrence of many diseases, in particular cancer.^{18;22}

In cancer, SIRT3 is implicated in the mediation of adaptive pathways linked with metabolism and gene expression, but till the moment it's not consensual whether its role is positive or negative in cancer, since, depending on the experimental methods used and type of cancer, SIRT3 displayed both tumor-suppressive and oncogenic roles.^{19;23}

Human ovarian cancer is a life-threatening gynecological malignancy, which is usually diagnosed in advanced stages due to the lack of early symptoms. This induces cancer growth till the advanced stages and leads to a high progression and poor prognosis, with just a 40% five-year survival rate.^{24;25} In ovarian cancer, few effective treatments are available, evidence shows that SIRT3 can interfere with the proliferation of cancer cells. In SKOV3 cells, an ovarian adenocarcinoma cell line, SIRT3 has low expression. To overcome this, treatment with ultrasound targeted micro-bubble destruction (UTMD) is a novel approach to deliver the SIRT3 gene and increase its expression in tumor cells. UTMD avoids the degradation of plasmids in the blood once they are transported in bubbles, allowing the delivery of a plasmid to the target tissues. It's also safer than the previously existing gene delivery systems. The elevation of SIRT3 was successful and led to a decrease not only in cell proliferation, but also migration, and invasion. It also led to a decreased expression of Ki67 (a proliferation marker), vimentin, and N-cadherin and, in contrast, to an increased expression of E-cadherin, caspase-3, and caspase-9 which are apoptosis inducers.²⁴

In granulosa cell tumor (GCT), a rare type of ovarian cancer, high levels of SIRT3 expression were positively correlated with increased proliferation and elevated levels of Ki67 expression.²⁶ The reasons for this discrepancy are currently unclear and further research is required to fully elucidate the role of SIRT3 in cell proliferation in different types of ovarian cancer.

Breast cancer is the most prevalent type of cancer in the world. Despite the efforts, breast cancer survival has remained the same in the last decades.^{22;7} SIRT3 can also influence proliferation in ER α positive breast cancer. In normal breast tissue, 23% of the tissue is negative for SIRT3 expression but this percentage grows to 74% of the tissue when we look at breast cancer tissue. Typically, in this cancer type, SIRT3 has a low expression which explains an increase in proliferation once SIRT3 disrupts the interaction between estrogen receptor (ER) α

and P53. P53 exerts its tumor suppressive role through the induction of certain genes responsible for cycle arrest and DNA repair. In ER α -positive breast cancer, P53 activity is repressed by binding to ER α , triggering cancer progression. The overexpression of SIRT3 attenuates estradiol (E2) proliferative effects on breast cancer cells, induces DNA damage, lowers migration, and diminishes cancer cells' ability to form colonies.²⁷

Furthermore, in breast cancer, a group of investigators found out that SIRT3 expression is positively regulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 α (PGC-1 α). The overexpression of PGC-1 α /SIRT3 induces apoptosis and causes a decrease in cell proliferation through inhibition of glycolysis. PGC-1 α is a transcriptional coactivator that controls mitochondrial biogenesis and cellular metabolism and therefore can regulate cancer cells' survival and proliferation. The inhibition of SIRT3 partially reversed the previously mentioned effects, showing that SIRT3 plays an important role in inducing apoptosis in breast cancer.²²

SIRT3 overexpression seems to be beneficial in some types of lung cancer because it regulates mutant P53 and induces apoptosis. Lung cancer is divided into small-cell lung cancer (SCLC) and non-small cell lung cancer (NSCLC) by the WHO, SCLC having 13% of prevalence, being NSCLC more prevalent.²⁸ P53 protein is mutated in more than 50% of SCLC, gaining an oncogenic role. Mutated P53 also prevents normal P53 to play its tumor suppressive role.²⁹ SIRT3 is responsible for post-translation modifications of P53. An earlier study associated reduced expression of SIRT3 with higher levels of mutant P53. A more recent study of the same group revealed that SIRT3 overexpression led to apoptosis and necroptosis in SCLC. The mechanism through which it happened was uncertain, but the scientists hypothesized that it involves the degradation of mutant P53 by the ubiquitin-proteasome.²⁸

In gallbladder cancer, SIRT3 expression has also been shown to be decreased and to promote a dysfunctional ferroptosis in contrast to high expression of SIRT3 that leads to a correct and committed ferroptosis. Ferroptosis is a type of cell death that was discovered recently and is characterized by its dependence on iron. Accordingly, SIRT3 silencing led to the decrease of ROS and increase of Glutathione/oxidized glutathione and NADPH/NADP ratios, resulting in tumor development. Thus, in gallbladder cancer, SIRT3 acts as a tumor suppressor by promoting cell death.³⁰

In contrast, some studies also show that elevated levels of SIRT3 can be negative in other types of cancer. For example, in Diffuse large B-cell lymphomas (DLBCLs) with Ataxia-telangiectasia mutated gene (ATM) deficiency, cancer cells adjust their metabolic demand

through modulation of the mitochondrial function under hypoxic stress. In case of oxidative stress, to prevent ROS-induced cell death, these cancer cells activate SIRT1 and 3 because of their role as detoxifying enzymes. In lymphomas with ATM-deficient cell backgrounds, SIRT3 is a critical metabolic target associated with lymphoma development. SIRT3 is also implicated in the resistance of acute myeloid leukemia cells since it leads to the reprogramming of mitochondrial metabolism towards OXPHOS and downregulating ROS generation. The inhibition of SIRT3 signaling leads to the suppression of tumor growth in ATM-deficient cells. On the other hand, SIRT3 expression promoted lymphoma growth in the same cell type. In this study, SIRT3 inhibitors were also found to prevent ATM binding and affect the sensitivity of these cells to genotoxic stress, inducing apoptosis.³¹

Additionally, in hemangioendothelioma, lowering the levels of SIRT3 causes an increase in phosphorylation of AMPK, inducing a loss of cell viability. Phosphorylation of AMPK, a key signaling partner of SIRT3, is associated with the depletion of energy. The role of SIRT3 was confirmed since the use of an inducer of SIRT3 rescued these cells.³²

Finally, in prostate cancer, SIRT3 inhibits receptor-interacting serine/threonine protein kinase (RIPK) 3 which is critical for activating necroptosis. Necroptosis is a type of inflammatory and programmed cell death, mediated by RIPK1 and RIPK3.^{28; 33} Therefore, increased levels of SIRT3 lead to the inhibition of necroptosis and the innate response from our immune system. The knockdown of SIRT3 reactivated the recruitment of immune cells like macrophages and necroptosis.³³

SIRT3 also plays a role in cell proliferation and cell death mediated by chemotherapy and radiotherapy. In NSCLC, cisplatin is the most used chemotherapeutic agent, but cisplatin-induced resistance occurs frequently, reducing its efficacy and worsening clinical outcomes. The overexpression of SIRT3 elevates the expression of FOXO3 that in its turn regulates positively Chromatin licensing and DNA replication factor I (CDT1) expression, contributing to enhancing cell apoptosis and lung cancer cells' sensitivity to cisplatin, inhibiting viability, invasion and proliferation. CDT1 is a protein that regulates DNA replication. FOXO3 regulates the stress responses in case of oxidative stress, DNA damage and hypoxia, being crucial in cell homeostasis and longevity.³⁴ Also, in NSCLC radiotherapy is commonly used, but like chemotherapy, radioresistance develops frequently. SIRT3 is vital to activate the ATM-Chk2 signal pathway upon radiation. The ATM-Chk2 pathway is central in DNA damage repair, therefore the inhibition of SIRT3 consequently inhibits DNA repair turning the cells sensitive to radiation. Overexpression of SIRT3 increased radioresistance.^{35; 36}

In conclusion, SIRT3 is involved in the regulation of cell proliferation and cell death. Depending on the cancer type and sometimes even on the cancer subtype, it can be beneficial to inhibit or, in contrast, to enhance SIRT3 expression and/or activity to slow cancer development or even induce cancer cell death. Therefore, SIRT3 is an enzyme worth studying more deeply in each cancer type to reach a correspondence between cancer type and favorable inhibition/enhancement of SIRT3 expression and activity.

4. Sirtuin 3 and cancer

In this chapter, the role of SIRT3 as a prognosis marker in many types of cancer, modulators of SIRT3 as potential anti-cancer drugs and enhancers of chemotherapy will be presented.

4.1 Sirt3 as a prognostic marker

A prognostic biomarker is a “biomolecule that can be used to identify the likelihood of a clinical event, disease recurrence or progression in patients who have the disease or medical condition of interest”³⁷, in this case, who has cancer. Prognostic markers are highly important in cancer to predict which patients are prone to develop cancer, to distinguish cancer patients in risk groups, to predict survival and to predict the response/resistance to treatment.

Many studies are focusing on SIRT3 and its potential to be a prognostic marker. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the SIRT3 gene were correlated with a predisposition to develop gastric and head and neck cancers. In particular, rs3782116 and rs6598072, two SNPs located in the intronic region of the SIRT3 gene, have been associated with an increased risk of developing gastric and head and neck cancers.^{20: 21} Another SNP, located in the coding region (rs11246020) of the SIRT3 gene, was also correlated with an increased risk to develop gastric cancer and decreased survival.²⁰ Besides that, when an increased number of mutant genes is present in SIRT3/FOXO3/SOD2 axis, head and neck cancer patients have a more aggressive clinical outcome.²¹ Thus, these specific SNPs were suggested as potential prognostic markers for gastric and head and neck cancers.²⁰

SIRT3 expression can also be correlated with the size of tumors. For example, in pituitary adenomas the majority of the tumors grows slowly, are monoclonal and benign, but can also evolve becoming more aggressive and invasive. In this type of adenomas, SIRT3 is underexpressed and an inverse correlation between the size of the tumor and SIRT3 expression was found, suggesting that in pituitary adenomas, SIRT3 may be related to the

control of proliferation.³⁸ Therefore, pituitary adenoma patients with high SIRT3 expression are prone to have smaller tumors with a lower probability of carcinogenic transformation.

Additionally, it's also possible that SIRT3 indicates the presence of cancer. A study in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) measured SIRT3 levels in the serum. When compared to healthy patients, ESCC patients had significantly higher levels of SIRT3. In patients with metastasis, the difference was even more notorious. However, the mechanism through which SIRT3 is involved in ESCC progression it's not fully understood.³⁹

The majority of the studies conducted so far investigated SIRT3 as a prognostic marker for overall survival. In some cancers, like prostate cancer, diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and NSCLC, higher levels of SIRT3 were associated with poor overall survival.

Prostate cancer is a heterogeneous type of tumor, bearing alterations in the acetylation of histones. In this type of cancer, patients with higher levels of SIRT3 expression have poor survival. Genetic mutations in the SIRT3 gene serve as well as predictive biomarkers for survival in prostate cancer patients.³³

DLBCLs are an aggressive and heterogeneous group of cancers in which 40% of the patients relapse or are refractory to treatments. DLBCL cells are biologically dependent on SIRT3 regardless of the disease subtype, once SIRT3 maintains the proliferation, survival, and self-renewal of this type of cell. DLBCL cells present higher SIRT3 mRNA and protein levels than normal B cells. The study verified that higher SIRT3 expression was significantly associated with a diminish in overall survival.⁴⁰

NSCLC is one of the most prevalent cancers worldwide and the one that has the highest cancer-associated death in both sexes.^{34: 36} SIRT3 expression is elevated in NSCLC cells when compared to normal ones. This elevation is even more notorious in squamous cell carcinoma, a type of NSCLC. Besides that, SIRT3 expression was related to Ki-67 and phosphorylated protein kinase B (AKT), suggesting that SIRT3 is correlated with NSCLC malignancy. High levels of SIRT3 in SCLC are correlated with poorer overall survival. Further studies with SIRT3 will help understand NSCLC initiation and progress.⁴¹

In contrast, in other studies on ovarian cancer, breast cancer, gallbladder cancer, hepatocellular carcinoma and pancreatic adenocarcinoma, high levels of SIRT3 were correlated with better overall survival.

In ovarian cancer cells, SIRT3 expression is usually downregulated. The upregulation of SIRT3 in this type of cancer caused a diminution of viability, invasion and migration. A group

of scientists investigated the prognosis potential of SIRT3 in serous ovarian cancer and discovered that SIRT3 is an independent predictor of better overall survival and adds prognostic value to the currently used staging systems for ovarian cancer.⁴² Low SIRT3 in ovarian cancer was found to be negatively correlated to patients' survival.⁴³

In all types of breast cancer, low expression of SIRT3 is related to decreased survival. Because of that, SIRT3 has the potential to be used as a biomarker to help identify breast cancer patients with poor prognoses.⁴⁴

Gallbladder cancer is a type of cancer connected to the biliary tract. This cancer is often diagnosed when it's already in an advanced stage, and sometimes already has hepatic metastasis. In this type of cancer, SIRT3 levels are decreased and these decreased levels are connected with poor survival. Patients with higher levels of SIRT3 in this type of cancer have better chances of survival.³⁰

Hepatocellular carcinoma is characterized by rapid progression, insidious onset and a high degree of malignancy. Because of this, it is usually diagnosed in intermediate or advanced states. Therapies for this type of cancer are improving but the rate of recurrence and metastasis is still high. In liver cancer tissues, SIRT3 expression is downregulated, and this low expression is correlated with poor overall survival.⁴⁵ The expression levels of SIRT3 in hepatocellular carcinoma are also correlated to chemosensitivity to sorafenib, and thus may be used to predict sorafenib response and monitor, through fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET) imaging, sensitivity to the drug in hepatocellular carcinoma patients during treatment.⁴⁶

In papillary renal cell carcinoma, not only it's uncommon to have an early diagnosis but also, many patients are prone to recurrence or metastasis. A study tried to find stemness-associated senescence signatures that were associated with papillary renal cell carcinoma prognosis. One of the eight associated biomarkers found is SIRT3, with elevated expression levels correlated with better survival.⁴⁷

Multiple myeloma emerges from plasma cells' monoclonal proliferation, having a short overall survival and increased production of monoclonal paraprotein, bone destruction and displacement of hematopoietic cell lines. In this type of cancer, the number of bone lesions is associated with reduced SIRT3 expression. This low expression also seems to be correlated with an advanced clinical stage. Therefore, the use of SIRT3 and oxidative stress as new biomarkers for the stratification of risk has been proposed, allowing the identification of patients with worse prognoses.⁴⁸

The most common type of pancreatic cancer is pancreatic adenocarcinoma. Pancreatic cancer tissues have a low expression of SIRT3 compared with surrounding normal tissues and SIRT3 expression was correlated with tumor stage. Patients that have a positive expression of SIRT3 had a larger survival time compared with patients with negative SIRT3 expression. Therefore, SIRT3 levels in pancreatic cancer tissue may be useful as prognostic markers of survival.⁴⁹

SIRT3 correlation with overall survival sometimes is not consensual in the same type of tumor for example in colorectal cancer.

Colorectal cancer cells often present a higher level of ROS production and accumulation when compared to normal cells. These higher levels play an important role in tumorigenesis and facilitate cell growth, cell survival and resistance to chemotherapy.⁵⁰ SIRT3 deacetylates Serine hydroxymethyltransferase 2, an enzyme that converts serine into glycine and whose expression is altered in cancer, thus increasing serine availability and its consumption by cancer cells. The presence of SIRT3 in all these mechanisms can explain the correlation of high SIRT3 levels with poor prognosis in colorectal cancer. On the other hand, there is also evidence that low levels of SIRT3 contribute to a poor prognosis in colorectal cancer patients. For instance, SIRT3, besides its many other roles, also protects cells from oxidative stress by inducing an antioxidant response that involves the activation of manganese superoxide Dismutase (MnSOD) by deacetylation. A study found that MnSOD/SIRT3 ratio was higher in colon cancer tissue in comparison to normal tissue. Cancer tissue has more MnSOD than normal tissue but has also a higher degree of acetylation, in line with decreased levels of SIRT3.⁵¹ Patients presenting a higher MnSOD/SIRT3 ratio, in other words, lower levels of SIRT3, have a poorer prognosis.⁵² The reasons underlying this contradictory evidence are unclear and although SIRT3 inhibitors may be beneficial⁵³, more research is needed to elucidate the causes of the discrepancies which in turn will determine the circumstances where modulation (either inhibition or activation) of SIRT3 can be advantageous.

In conclusion, SIRT3 has demonstrated a contradictory role in the prognosis of overall survival. A possible explanation for this is that SIRT3 is involved in many pathways, most of which are also involved in apoptosis and proliferation. Furthermore, depending on the cancer type and probably other factors, SIRT3 can either enhance or inhibit cancer development and progression.

4.2 Modulators of SIRT3 as potential anti-cancer drugs

Some natural compounds have been studied as modulators of SIRT3, three examples are natural berry extract, triptolide and glycyrrhizic acid.

Natural berry extract is rich in anthocyanins that are known to inhibit tumorigenesis. The first study of Gayle's group showed that the berry extracts prolonged the survival of mice with hemangioendothelioma.⁵⁴ In a recent study, the same group tested the role of the mitochondria function on the development of hemangioendothelioma and also if the use of berry extract can turn low X-ray radiation effective and with the ability to target mitochondrial respiration of tumor cells. They found out that using berry extract allows the effective use of low X-ray radiation, which on its own is so low that doesn't affect the cells. X-ray radiation combined with berry extract lowered the levels of SIRT3 leading to enhanced survival of mice affected with hemangioendothelioma.³²

Triptolide is isolated from *Tripterygium wilfordii* or the "thunder god vine" and has shown broad-spectrum anti-tumor properties.^{17; 55} Burkitt's lymphoma, a non-Hodgkin B-cell and extremely aggressive lymphoma, has poor clinical outcomes and prognosis. Malignant B cells have lower amounts of SIRT3 which contribute to Burkitt's lymphoma's genesis, development, and invasiveness. On the other hand, increasing SIRT3 could lead to apoptosis in these cells. The use of triptolide induced an increased expression of SIRT3 which consequently led to the deacetylation and activation of Glycogen synthase kinase 3 beta (GSK-3 β) and increased expression of Bax. GSK-3 β acts in the nucleus and mitochondria as a cytosolic signal molecule. His signals are critical for cellular metabolism, structure, growth, motility, and survival. This way triptolide induces cytotoxicity and apoptosis in a dose-dependent way through the activation of the SIRT3/ GSK-3 β /Bax pathway.¹⁷

Many pharmacological activities have been attributed to Glycyrrhizic acid, including anti-cancer and antioxidative stress activities. In colorectal cancer glycyrrhizic acid decreased the levels of SIRT3, which in its turn decreased the levels of cyclin D1, CDK2, and CDK4, blocking cancer cells in the G1/ G0 phase and, thus, inhibiting proliferation, invasion, and migration of cancer cells. The overexpression of SIRT3 reversed the effects of glycyrrhizic acid. Besides that activity, glycyrrhizic acid was also capable of inducing apoptosis through the downregulation of SIRT3 and consequently diminished expression of the anti-apoptotic protein (Bcl2) and upregulated expression of pro-apoptotic proteins (Bax and caspase 3) inducing cancer cell apoptosis.⁵⁶

Nowadays there has been an increasing interest in researching the potential of certain dietary interventions for reducing cancer incidence or even helping in cancer treatment. Whey is a milk protein extract obtained from Mediterranean water buffalo (*Bubalus bubalis*) milk, which contains several essential and non-essential amino acids, being rich in L-carnitine, short-chain acylcarnitines and betaines, including δ -valerobetaine and glycine betaine. On colorectal cancer cells and human oral squamous cell carcinoma cells, δ -valerobetaine, acting in synergy with other betaines present on whey, showed antioxidant, anti-inflammatory and anticancer properties. These properties of δ -valerobetaine occur through the modulation of sirtuins. The expression of genes like peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR- α), peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- γ) and peroxisome proliferator-activated receptor-delta (PPAR- δ) is mediated by SIRT3. PPAR- γ has a significant role in lipid storage, glucose metabolism, energy homeostasis, inflammation and cancer. High levels of PPAR- γ were correlated with less advanced tumor, initial metastasis state, fewer grades and size of the tumor. PPAR- α influences the transcriptional activity of the oncogene Src, resulting in cell invasion and metastasis. Elevated levels of PPAR- α have in contrast an inverse correlation to the clinicopathological factors previously mentioned for PPAR- γ .¹⁹ Once SIRT3 mediates both PPAR- α and PPAR- α , having them opposite effects, this could be a possible explanation for the different roles displayed by SIRT3 in different cancers. In HT-29 and HCT 116 cell lines, whey treatment increased the expression levels of SIRT3, which downregulated PPAR- α and upregulated PPAR- γ , causing growth inhibition and apoptosis induction. Therefore, these findings suggest that SIRT3 is directly or indirectly behind whey effects. Further investigation is needed to determine the mechanism through which SIRT3 mediates the antitumor effects of whey in colorectal cancer cells.¹⁹

Endogenous molecules are also being studied in cancer, for example, melatonin. Melatonin is a hormone that regulates circadian rhythms. Besides that it's also an antioxidant and an anti-cancer hormone, inhibiting the proliferation and inducing apoptosis. Melatonin was shown to upregulate the levels of SIRT3 in lung cancer cells (A549, PC9, and LLC), which consequently increased the stimulation of pyruvate dehydrogenase. The use of OXPHO was restored, instead of glycolysis, consequently leading to reduced metastasis and apoptosis. Besides, it was also found that without the presence of SIRT3, tumor formation in lung cancer is faster.⁵⁷

Another use for melatonin is combining it with anti-cancer drugs. Many studies showed that melatonin turned the cells sensitive to treatment and enhanced apoptosis through the

reduction of cell viability and growth. For instance, melatonin was evaluated in combination with shikonin (SHK), an active plant extract. The monostatic and cytotoxic effects of Melatonin-SHK combined therapy occur likely through inhibition of SIRT3/SOD2 expression. In cell types from various cancers, Melatonin-SHK treatment led to apoptosis and endoplasmic reticulum stress, causing AKT inactivation via increased ROS production. Because of what was previously stated they suggest that SIRT3-SOD2 acts as a master regulator on cellular processes required for the survival of cancer cells.⁵⁸

A possible explanation for the contradictory results obtained in the two previously mentioned articles about the use of melatonin can be the different cell lines used in each study. The first study used lung cancer cell lines, and the second one used Hela (cervical cancer), MCF7 (breast cancer), AGS (gastric adenocarcinoma) and SW480 (colon adenocarcinoma) cell lines. As we have seen in this review SIRT3's role depends on cancer type. Once melatonin exerts its effects through the modulation of SIRT3, different cancer types or different experimental methods can be possible explanations for the difference of results. Another explanation for the different results might be that one study tested melatonin alone and the other study only tested melatonin combined with SHK and never alone, the results can be only attributed to the association. To reach further conclusions about melatonin's modulation of SIRT3, more studies testing melatonin alone are needed.

Another option to modulate SIRT3 can be a repurposing of already existent drugs. Metformin is an antidiabetic drug that has also shown anticancer effects in some types of cancer. In HT-29, a colorectal cancer cell line, metformin was capable of decreasing cell viability, inducing the loss of mitochondrial intermembrane potential, increasing ROS levels, inducing cell death by necrotic and apoptotic processes and increasing SIRT3 expression and activity. However, it wasn't toxic to HEK 293 cells, an embryonic kidney cell line. The toxic effects exerted by metformin are directed by mitochondria-related apoptosis and might be linked with modulation of SIRT3, ROS and succinate dehydrogenase in colon cancer cells, but not in other cells, like HEK 293.⁵⁹

Finally, it's also possible to develop compounds that target SIRT3, in order to activate or inhibit it.

A study assessed compounds that activate SIRT3, aiming to find a suitable candidate for future drug development as a specific activator of SIRT3 on triple-negative breast cancer. One of those compounds, through the selective activation of SIRT3, induces autophagy and mitophagy and consequent cell death in the breast cancer cell line, MDA-MB-231.¹⁸

The loss of SIRT3 in DLBCL significantly inhibited cell proliferation, increased apoptosis, and lead to a diminished capability of self-renewal. SIRT3 is also needed for lymphomagenesis and to maintain the growth of lymphomas, but it is dispensable for germinal center B cell formation, proving to be an acquired adaptation associated with malignant lymphomas. Through its deacetylase activity, SIRT3 suppresses autophagy in DLBCL. The perturbation of the TCA cycle with shRNAs targeting SIRT3, activated autophagy which has a tumor-suppressive effect in DLBCL. So, the authors used SIRT3 as a therapeutic target of DLBCLs creating a small molecule SIRT3 inhibitor: YC8-02, that increased mitochondrial protein acetylation and induced autophagy.⁴⁰

The two previously mentioned studies reached opposite conclusions about SIRT3's role in autophagy. In the first study, the use of the compound increases the expression of autophagy markers. In the second study, silencing SIRT3 activated autophagy. It's known that SIRT3 regulates multiple autophagy-related proteins¹⁸, but none of the studies enlightened the mechanisms through which it happens. A probable explanation relies upon the different types of cancer tested and cell lines used. Also, due to the high number of pathways SIRT3 is involved in, it's not easy to determine the mechanism through which SIRT3 regulates autophagy even studying the same cancer type.⁶⁰

Class I sirtuins (SIRT1-3) have similar substrate preferences and mechanisms, and because of that, it has been difficult to develop an inhibitor with selectivity for SIRT3.⁶¹ A drug screening was developed to find a compound that targets selectively SIRT3. In total 30 compounds were tested through structure-activity relationship studies, toxicity studies, and the mitochondrial targeting ability (since SIRT-3 is located there). Then evaluated the selectivity of SIRT3 in a culture of HEK239T cells concluding that compound 17 binds with both SIRT1 and SIRT3 but only SIRT3 was inhibited enough to affect deacetylation targets.⁶² This article proves that it's possible to selectively develop compounds that target SIRT3.

Another study, in T-cell lymphoma and erythroleukemia, evaluated several C21-steroidal derivatives compounds. One of that compounds A671, interacts with SAPI8, leading to the activation of the SAPI8/SIN3 complex, which consequently suppresses transcription of SIRT3. Of all the compounds studied A671, which holds a CCC domain, has a higher binding affinity to SAPI8 and consequent activation of SIN3 complex, blocking SIRT3 expression and leading to apoptosis. Other compounds without the CCC domain didn't inhibit SIRT3, leading to cell survival, suggesting that SIRT3 has an oncogenic role in T-cell lymphoma.⁶³

To summarize, it's possible to modulate SIRT3 through different strategies. In the future, if SIRT3 role is fully enlightened in cancer, we already have studies of SIRT3 modulators (inhibitors and activators) to proceed in more extensive studies and possibly become new cancer therapies.

4.3 - SIRT3 and sensitivity/resistance to chemotherapy and radiotherapy

Despite the potential of SIRT3 as a new therapeutic target for cancer, it can also have a significant role as a chemotherapy and radiotherapy adjuvant to overcome resistance.

SIRT3 can help overcome radioresistance in NSCLC. Being radiotherapy one of the few types of treatment available, it's urgent to find a solution to the radioresistance problem. SIRT3 participates in the DNA repair signaling pathway and, therefore, overexpression of SIRT3 increases radioresistance in these cells, while knockdown of SIRT3 turned the cells sensitive to radiation.⁶⁴ This suggests that strategies capable of downregulating SIRT3 may be effective in increasing the radiosensitivity of NSCLC.

The inhibition of SIRT3 can also help overcome resistance to chemotherapeutic agents. Cisplatin through induction of oxidative stress interferes with DNA repair mechanisms resulting in DNA damage and inducing cancer cell apoptosis. Mitochondrial methylenetetrahydrofolate Dehydrogenase 2 (MTHFD2) generates NADPH and because of that can overcome oxidative stress and maintain redox homeostasis, which both are critical for tumor progression. MTHFD2 was found to be a deacetylation substrate of SIRT3. This SIRT is therefore capable of maintaining the activity of the MTHFD2 enzyme and the production of NADPH in tumor cells. Cisplatin can increase the acetylation of MTHFD2 through the inhibition of SIRT3 resulting in an upregulation of ROS and downregulation of NADPH levels. Also, SIRT3 protein levels were negatively associated with acetylated K88 MTHFD2 in colorectal cancer. The authors suggested the cumulative use of cisplatin with an inhibitor of MTHFD2 or SIRT3 in colorectal cancer, to overcome the tumor's resistance mechanism to cisplatin.⁶⁵

Like cisplatin, oxaliplatin also reaches its apoptotic effects by inducing excessive ROS production. As we previously mentioned, SIRT3 protects cells from oxidative stress and controls several antioxidant genes. Silencing SIRT3 in colon cancer cells drives a downregulation of antioxidant genes, and a reduction of MnSOD activity and protein levels. It also leads to an increase in ROS production leading to an increase in apoptosis. The combined

use of oxaliplatin and knockdown of SIRT3 enhanced oxaliplatin effectivity once ROS levels were so high that were incompatible with cell viability.⁵⁰

But the majority of the studies found that SIRT3 overexpression can help overcome chemotherapy resistance. In lung cancer, more specifically SCLC, SIRT3 can increase the chemosensitivity of cancer cells through the reduction of mutated P53 expression leading to cell apoptosis. P53 in its mutated form has been identified as a marker to predict chemoresistance in SCLC. SIRT3 is capable of directly deacetylating mutant P53 reducing its expression and leading to its degradation by the ubiquitin-proteasome system. Therefore, an enhancement occurred in the chemosensitivity of SCLC cells treated with cisplatin, through SIRT3 overexpression.⁶⁶

In NSCLC, cisplatin is the most used chemotherapeutic agent, but cisplatin-induced resistance occurs frequently, reducing its efficacy and worsening clinical outcomes. The overexpression of SIRT3 leads to the elevation of the FOXO/CDT1 pathway, increasing cancer cells' sensitivity to cisplatin, and resulting in diminished viability, invasion, and enhanced apoptosis of cancer cells.³⁴

Bcl2 protein family has the potential to regulate the link between mitochondrial dynamics and cancer and its overexpression can enhance cisplatin resistance. In line with this knowledge, the use of a Bcl2 inhibitor (ABT737) combined with cisplatin treatment was assessed and found to increase apoptosis in SKOV3 cells, through a mechanism likely to involve SIRT3.²⁵

Regorafenib is a broad-spectrum tyrosine kinase inhibitor and an analog of the well-known sorafenib. In hepatocellular carcinoma, both drugs (regorafenib and sorafenib) are capable of effectively extend patients' survival. Recently, it was found that treatment with regorafenib can decrease SIRT3 levels, but that reduction might be associated with the induction of resistance of the cancer cells to the therapeutic agent. Confirming this hypothesis, SIRT3 overexpression was found to impair the function of the electron transport chain, enhance mitochondrial dysfunction and increase ROS production and apoptosis induced by regorafenib.⁴⁵

Another study in hepatocellular carcinoma aimed to discover a compound that could increase endogenous SIRT3 modulation mediated by sorafenib. The authors used a CDK4/6 inhibitor (PD0332991) as this type of inhibitor is currently used to treat many types of tumors. SIRT3 was upregulated by the inhibition of CDK4/6 and the use of PD0332991 induced the

downregulation of glycolysis-related genes. With PD0332991 restoring SIRT3, the sensitivity of cancer cells to sorafenib was increased, inhibiting proliferation and migration.⁴⁶

Nitric oxide is a multipotent free radical gas that plays many key roles in pathophysiologic processes.⁶⁷ Recently its role in carcinogenesis and tumor progression was recognized.^{68; 69} Nitric oxide synthase I (NOS1) or neuronal nitric oxide synthase is one of the three different types of nitric oxide synthases responsible for synthesizing nitric oxide.⁷⁰ In colon cancer cells NOS1 is translocated into the mitochondria assisted by HSP90, attenuating superoxide production induced by cisplatin and increasing SIRT3 activity leading to apoptosis attenuation. The study didn't reach a clear conclusion in terms of the mechanism causing the resistance, but all the data they obtained suggests that in colon cancer cells mtNOS1-SIRT3-SOD2 axis contributes to resistance to cisplatin through inhibition of mitochondrial ROS and apoptosis.⁷¹

5. Conclusion

Cancer is an emergent disease whose numbers are increasing at a fast rate. Our way of life can also enhance cancer numbers in the years to come. The therapeutic options available for cancer are still limited and resistance develops frequently.

Evidence suggests that SIRT3 is involved in the decrease of cancer cell's proliferation and cell death. Depending on cancer type benefic effects might come from inhibiting or enhancing SIRT3 expression. One possible explanation for the lack of a consensus on some cancer types might be that some studies don't investigate the SIRT3 role in each cancer subtype but only in the most prevalent cancer type. For example, in ovarian cancer, the elevation of SIRT3 led to a decrease in cell proliferation.²⁴ In contrast in GCT, a rare type of ovarian cancer, high levels of SIRT3 expression were correlated with elevated levels of proliferation.²⁶ So, investigating deeply the role in each cancer subtype might provide a correlation between cancer subtype and benefic inhibition/enhancement of SIRT3 activity.

Moreover, many types of cancer are diagnosed too late, when they are already in advanced stages, diminishing the probability of a good prognosis. This happens because of the lack of means of diagnosis that are capable of diagnosing some types of cancer in earlier stages. SIRT3 displayed once more a contradictory role as a prognosis marker. The same possible explanation applies, and if in the future is possible to correlate subtype of cancer with a benefic inhibition/enhancement of SIRT3 activity, will be possible to use SIRT3 as a prognosis marker.

Finally, SIRT3 also seems to participate in the mechanisms involved in chemo and radioresistance, but like its potential usefulness as a prognostic biomarker and therapeutic target, also its role in cancer cells' resistance to therapy needs to be further studied. In particular, it will be important to determine whether and in which conditions, namely type of cancer and therapeutic agent, will it be beneficial to increase or decrease its expression and/or activity.

An important reflection to leave for a future in which the relation between the benefic inhibition/enhancement of SIRT3 in each cancer type was established, and SIRT3 starts to be used as a new therapeutical target. Taking the example of lung cancer, in SCLC is positive to overexpress SIRT3 and in contrast in NSCLC is positive to inhibit. The important question is if we treat an SCLC patient with an inductor of SIRT3, curing that disease at the same type will not induce or facilitate the development of NSCLC (in which SIRT3 presence is negative). Testing this hypothesis is highly important to be sure if a possible solution for future cancer treatment will not induce another type of cancer.

6. Bibliography

1. WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Cancer**, atual. (2022). [Consult. 4 fev. 2022]. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1
2. BELCIUG, Smaranda - **Artificial Intelligence in Cancer: Diagnostic to Tailored Treatment**. [S.l.] : Elsevier, (2020). ISBN 9780128202012.
3. MELLO, Ramon; TAVARES, Álvaro; MOUNTZIOS, Giannis - **International Manual of Oncology Practice**. second ed. [S.l.] : Springer International Publishing, (2015).
4. HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. - Hallmarks of cancer: The next generation. **Cell**. ISSN 00928674. 144:5 (2011) 646–674. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
5. HANAHAN, Douglas - Hallmarks of Cancer: New Dimensions. **Cancer Discovery**. ISSN 21598290. 12:1 (2022) 31–46. doi: 10.1158/2159-8290.CD-21-1059.
6. WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Cancer Tomorrow**, atual. 2022. [Consult. 4 fev. 2022]. Disponível em: https://gco.iarc.fr/tomorrow/en/dataviz/isotype?types=1&single_unit=500000
7. WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Cancer Today**, atual. 2022. [Consult. 4 fev. 2022]. Disponível em: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie?v=2020&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=total&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=7&group
8. VELCHETI, Vamsidhar; PUNEKAR, Salman R. - **Handbook of cancer treatment-related toxicities**. 1st. ed. [S.l.] : Elsevier, (2021). ISBN 9780323672412.
9. HERRMANN, Joerg - Adverse cardiac effects of cancer therapies: cardiotoxicity and arrhythmia. **Nature Reviews Cardiology**. ISSN 17595010. 17:8 (2020) 474–502. doi: 10.1038/s41569-020-0348-1.
10. YOSHIDA, Go J. - Metabolic reprogramming: The emerging concept and associated therapeutic strategies. **Journal of Experimental and Clinical Cancer Research**. ISSN 17569966. 34:1 (2015) 1–10. doi: 10.1186/S13046-015-0221-Y/TABLES/1.
11. SHUVALOV, Oleg et al. - Linking Metabolic Reprogramming, Plasticity and Tumor

Progression. **Cancers** 2021, Vol. 13, Page 762. ISSN 2072-6694. 13:4 (2021) 762. doi: 10.3390/CANCERS13040762.

12. DEBERARDINIS, Ralph J.; CHANDEL, Navdeep S. - We need to talk about the Warburg effect. **Nature Metabolism** 2020 2:2. ISSN 2522-5812. 2:2 (2020) 127–129. doi: 10.1038/s42255-020-0172-2.

13. VAUPEL, Peter; MULTHOFF, Gabriele - Revisiting the Warburg effect: historical dogma versus current understanding. **Journal of Physiology**. ISSN 14697793. 599:6 (2021) 1745–1757. doi: 10.1113/JP278810.

14. FAUBERT, Brandon; SOLMONSON, Ashley; DEBERARDINIS, Ralph J. - Metabolic reprogramming and cancer progression. **Science**. ISSN 10959203. 368:6487 (2020). doi: 10.1126/SCIENCE.AAW5473/ASSET/686116D0-E501-42AE-991A-BA9FC51159B0/ASSETS/GRAPHIC/368_AAW5473_FA.JPEG.

15. NENCLARES, P.; HARRINGTON, K. J. - The biology of cancer. **Medicine (United Kingdom)**. ISSN 13654357. 48:2 (2020) 67–72. doi: 10.1016/j.mpmed.2019.11.001.

16. WANG, Shuhan *et al.* - Advances in characterization of SIRT3 deacetylation targets in mitochondrial function. **Biochimie**. ISSN 1638-6183. 179:2020) 1–13. doi: 10.1016/j.BIOCHI.2020.08.021.

17. KONG, Jiamin *et al.* - Triptolide induces mitochondria-mediated apoptosis of Burkitt's lymphoma cell via deacetylation of GSK-3 β by increased SIRT3 expression. **Toxicology and applied pharmacology**. ISSN 1096-0333. 342:2018) 1–13. doi: 10.1016/J.TAAP.2018.01.011.

18. ZHANG, Jin *et al.* - Structure-Guided Design of a Small-Molecule Activator of Sirtuin-3 that Modulates Autophagy in Triple Negative Breast Cancer. **Journal of medicinal chemistry**. ISSN 1520-4804. 64:19 (2021) 14192–14216. doi: 10.1021/ACS.JMEDCHEM.0C02268.

19. D'ONOFRIO, Nunzia *et al.* - SIRT3 and Metabolic Reprogramming Mediate the Antiproliferative Effects of Whey in Human Colon Cancer Cells. **Cancers**. ISSN 2072-6694. 13:20 (2021). doi: 10.3390/CANCERS13205196.

20. MAHJABEEN, Ishrat *et al.* - Mitochondrial sirtuins genetic variations and gastric cancer risk: Evidence from retrospective observational study. **Gene**. ISSN 1879-0038. 807:2022). doi: 10.1016/J.GENE.2021.145951.

21. AHMED, Malik Waqar *et al.* - Relationship of single nucleotide polymorphisms and haplotype interaction of mitochondrial unfolded protein response pathway genes with head and neck cancer. **Future oncology (London, England)**. ISSN 1744-8301. 15:33 (2019) 3819–3829. doi: 10.2217/FON-2019-0365.
22. ZU, Yan *et al.* - PGC-1 α activates SIRT3 to modulate cell proliferation and glycolytic metabolism in breast cancer. **Neoplasma**. ISSN 0028-2685. 68:2 (2021) 352–361. doi: 10.4149/NEO_2020_200530N584.
23. CHALKIADAKI, Angeliki; GUARENTE, Leonard - The multifaceted functions of sirtuins in cancer. **Nature reviews. Cancer**. ISSN 1474-1768. 15:10 (2015) 608–624. doi: 10.1038/NRC3985.
24. CHENG, Li; ZHANG, Dongmei; YAN, Wei - Ultrasound-targeted microbubble destruction-mediated overexpression of Sirtuin 3 inhibits the progression of ovarian cancer. **Oncology reports**. ISSN 1791-2431. 46:4 (2021). doi: 10.3892/OR.2021.8171.
25. HOU, Lin *et al.* - ABT737 enhances ovarian cancer cells sensitivity to cisplatin through regulation of mitochondrial fission via Sirt3 activation. **Life sciences**. ISSN 1879-0631. 232:2019). doi: 10.1016/J.LFS.2019.116561.
26. SCHMID, Nina *et al.* - Sirtuin 1 and Sirtuin 3 in Granulosa Cell Tumors. **International journal of molecular sciences**. ISSN 1422-0067. 22:4 (2021) 1–15. doi: 10.3390/IJMS22042047.
27. PINTERIĆ, Marija *et al.* - Sirt3 Exerts Its Tumor-Suppressive Role by Increasing p53 and Attenuating Response to Estrogen in MCF-7 Cells. **Antioxidants (Basel, Switzerland)**. ISSN 2076-3921. 9:4 (2020). doi: 10.3390/ANTIOX9040294.
28. TANG, Xinyu *et al.* - Sirtuin 3 induces apoptosis and necroptosis by regulating mutant p53 expression in small-cell lung cancer. **Oncology reports**. ISSN 1791-2431. 43:2 (2020) 591–600. doi: 10.3892/OR.2019.7439.
29. XIONG, Shunbin *et al.* - Pla2g16 phospholipase mediates gain-of-function activities of mutant p53. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. ISSN 1091-6490. 111:30 (2014) 11145–11150. doi: 10.1073/PNAS.1404139111.
30. LIU, Liguang *et al.* - SIRT3 inhibits gallbladder cancer by induction of AKT-dependent

ferroptosis and blockade of epithelial-mesenchymal transition. **Cancer letters**. ISSN 1872-7980. 510:2021) 93–104. doi: 10.1016/J.CANLET.2021.04.007.

31. BHALLA, Kavita *et al.* - SIRT3, a metabolic target linked to ataxia-telangiectasia mutated (ATM) gene deficiency in diffuse large B-cell lymphoma. **Scientific reports**. ISSN 2045-2322. 10:1 (2020). doi: 10.1038/S41598-020-78193-6.

32. GORDILLO, Gayle M. *et al.* - Mitochondria as Target for Tumor Management of Hemangioendothelioma. **Antioxidants & redox signaling**. ISSN 1557-7716. 34:2 (2021) 137–153. doi: 10.1089/ARS.2020.8059.

33. FU, Weiwei *et al.* - The SIRT3 and SIRT6 Promote Prostate Cancer Progression by Inhibiting Necroptosis-Mediated Innate Immune Response. **Journal of immunology research**. ISSN 2314-7156. 2020:2020). doi: 10.1155/2020/8820355.

34. CAO, Yang *et al.* - SIRT3 promotion reduces resistance to cisplatin in lung cancer by modulating the FOXO3/CDT1 axis. **Cancer medicine**. ISSN 2045-7634. 10:4 (2021) 1394–1404. doi: 10.1002/CAM4.3728.

35. BENEDETTO, Anna DI *et al.* - Analysis of the ATR-Chk1 and ATM-Chk2 pathways in male breast cancer revealed the prognostic significance of ATR expression. **Scientific Reports**. ISSN 20452322. 7:1 (2017) 1–9. doi: 10.1038/s41598-017-07366-7.

36. CAO, Kun *et al.* - Sirt3 Promoted DNA Damage Repair and Radioresistance Through ATM-Chk2 in Non-small Cell Lung Cancer Cells. **Journal of Cancer**. ISSN 1837-9664. 12:18 (2021) 5464–5472. doi: 10.7150/JCA.53173.

37. SILVER SPRING (MD): FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (US); BETHESDA (MD): NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (US) - **FDA-NIH Biomarker Working Group. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource**. [Consult. 4 ago. 2022]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27010052/>

38. GRANDE, Isabella P. P. *et al.* - Differential gene expression of sirtuins between somatotropinomas and nonfunctioning pituitary adenomas. **Pituitary**. ISSN 15737403. 21:4 (2018) 355–361. doi: 10.1007/s11102-018-0881-7.

39. COBANOĞLU, U. *et al.* - A novel screening test for esophageal squamous cell carcinoma: Sirtuin-3. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**. ISSN 22840729. 21:23 (2017) 5399–5401. doi: 10.26355/EURREV_201712_13926.

40. LI, Meng *et al.* - Non-oncogene Addiction to SIRT3 Plays a Critical Role in Lymphomagenesis. **Cancer Cell**. ISSN 18783686. 35:6 (2019) 916-931.e9. doi: 10.1016/j.ccell.2019.05.002.
41. XIONG, Yanlu *et al.* - SIRT3 is correlated with the malignancy of non-small cell lung cancer. **International journal of oncology**. ISSN 1791-2423. 50:3 (2017) 903–910. doi: 10.3892/IJO.2017.3868.
42. LI, Jun *et al.* - Development and validation of SIRT3-related nomogram predictive of overall survival in patients with serous ovarian cancer. **Journal of ovarian research**. ISSN 1757-2215. 12:1 (2019). doi: 10.1186/S13048-019-0524-2.
43. XUAN, Z. H. *et al.* - PKMYT1 aggravates the progression of ovarian cancer by targeting SIRT3. **European review for medical and pharmacological sciences**. ISSN 2284-0729. 24:10 (2020) 5259–5266. doi: 10.26355/EURREV_202005_21308.
44. DESOUKI, Mohamed Mokhtar *et al.* - Decreased Mitochondrial SIRT3 Expression is Potential Molecular Biomarker Associated with Poor Outcome in Breast Cancer. **Human pathology**. ISSN 15328392. 45:5 (2014) 1071. doi: 10.1016/J.HUMPATH.2014.01.004.
45. WANG, Ruobing *et al.* - Sirt3 promotes hepatocellular carcinoma cells sensitivity to regorafenib through the acceleration of mitochondrial dysfunction. **Archives of biochemistry and biophysics**. ISSN 1096-0384. 689:2020). doi: 10.1016/J.ABB.2020.108415.
46. JO, Hanhee *et al.* - Modulation of SIRT3 expression through CDK4/6 enhances the anti-cancer effect of sorafenib in hepatocellular carcinoma cells. **BMC cancer**. ISSN 1471-2407. 20:1 (2020). doi: 10.1186/S12885-020-06822-4.
47. ZHANG, Yiwen *et al.* - Stemness-associated senescence genes as potential novel risk factors for papillary renal cell carcinoma. **Translational andrology and urology**. ISSN 2223-4691. 10:11 (2021) 4241–4252. doi: 10.21037/TAU-21-913.
48. ALLEGRA, Alessandro *et al.* - SIRT2 and SIRT3 expression correlates with redox imbalance and advanced clinical stage in patients with multiple myeloma. **Clinical biochemistry**. ISSN 1873-2933. 93:2021) 42–49. doi: 10.1016/J.CLINBIOCHEM.2021.04.002.
49. HUANG, Shanshan *et al.* - Low SIRT3 expression contributes to tumor progression, development and poor prognosis in human pancreatic carcinoma. **Pathology, research and**

practice. ISSN 1618-0631. 213:11 (2017) 1419–1423. doi: 10.1016/J.PRP.2017.07.023.

50. TORRENS-MAS, Margalida *et al.* - Sirtuin 3 silencing improves oxaliplatin efficacy through acetylation of MnSOD in colon cancer. **Journal of cellular physiology**. ISSN 1097-4652. 233:8 (2018) 6067–6076. doi: 10.1002/JCP.26443.

51. GAYA-BOVER, Auba *et al.* - Antioxidant enzymes change in different non-metastatic stages in tumoral and peritumoral tissues of colorectal cancer. **The international journal of biochemistry & cell biology**. ISSN 1878-5875. 120:2020). doi: 10.1016/J.BIOCEL.2020.105698.

52. GOSWAMI, Chirayu Pankaj; NAKSHATRI, Harikrishna - PROGgeneV2: Enhancements on the existing database. **BMC Cancer**. ISSN 14712407. 14:1 (2014) 1–6. doi: 10.1186/1471-2407-14-970/FIGURES/3.

53. WEI, Zhen *et al.* - Deacetylation of serine hydroxymethyl-transferase 2 by SIRT3 promotes colorectal carcinogenesis. **Nature communications**. ISSN 2041-1723. 9:1 (2018). doi: 10.1038/S41467-018-06812-Y.

54. BISWAS, Ayan *et al.* - Phytochemical Inhibition of Multidrug Resistance Protein-1 as a Therapeutic Strategy for Hemangioendothelioma. **Antioxidants & redox signaling**. ISSN 1557-7716. 26:17 (2017) 1009–1019. doi: 10.1089/ARS.2016.6881.

55. CRAGG, Gordon M.; NEWMAN, David J.; KINGSTON, David G. I. - Terrestrial Plants as a Source of Novel Pharmaceutical Agents. **Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology**. 2:2010) 5–39. doi: 10.1016/B978-008045382-8.00033-2.

56. ZUO, Zhenkui *et al.* - Glycyrrhizic acid exhibits strong anticancer activity in colorectal cancer cells via SIRT3 inhibition. **Bioengineered**. ISSN 2165-5987. 13:2 (2022) 2720–2731. doi: 10.1080/21655979.2021.2001925.

57. CHEN, Xiangyun *et al.* - Melatonin inhibits lung cancer development by reversing the Warburg effect via stimulating the SIRT3/PDH axis. **Journal of pineal research**. ISSN 1600-079X. 71:2 (2021). doi: 10.1111/JPI.12755.

58. LI, Mengling *et al.* - Melatonin sensitises shikonin-induced cancer cell death mediated by oxidative stress via inhibition of the SIRT3/SOD2-AKT pathway. **Redox biology**. ISSN 2213-2317. 36:2020). doi: 10.1016/J.REDOX.2020.101632.

59. KHODAEI, Forouzan *et al.* - Cytotoxicity of metformin against HT29 colon cancer cells contributes to mitochondrial Sirt3 upregulation. **Journal of biochemical and molecular toxicology**. ISSN 1099-0461. 35:3 (2021). doi: 10.1002/JBT.22662.
60. YUCHUAN, S. H. I. *et al.* - Potential relationship between Sirt3 and autophagy in ovarian cancer (Review). **Oncology Letters**. ISSN 17921082. 20:5 (2020) 1–1. doi: 10.3892/OL.2020.12023/HTML.
61. FRANTZ, Marie Céline; WIPF, Peter - Mitochondria as a target in treatment. **Environmental and molecular mutagenesis**. ISSN 08936692. 51:5 (2010) 462. doi: 10.1002/EM.20554.
62. TROELEN, Kathrin S. *et al.* - Mitochondria-targeted inhibitors of the human SIRT3 lysine deacetylase. **RSC chemical biology**. ISSN 2633-0679. 2:2 (2021) 627–635. doi: 10.1039/D0CB00216J.
63. GAJENDRAN, Babu *et al.* - A C21-steroidal derivative suppresses T-cell lymphoma in mice by inhibiting SIRT3 via SAPI8-SIN3. **Communications biology**. ISSN 2399-3642. 3:1 (2020). doi: 10.1038/S42003-020-01458-3.
64. CAO, Kun *et al.* - Sirt3 Promoted DNA Damage Repair and Radioresistance Through ATM-Chk2 in Non-small Cell Lung Cancer Cells. **Journal of Cancer**. ISSN 1837-9664. 12:18 (2021) 5464–5472. doi: 10.7150/JCA.53173.
65. WAN, Xingyou *et al.* - Cisplatin inhibits SIRT3-deacetylation MTHFD2 to disturb cellular redox balance in colorectal cancer cell. **Cell death & disease**. ISSN 2041-4889. 11:8 (2020). doi: 10.1038/S41419-020-02825-Y.
66. GUO, Rui *et al.* - SIRT3 increases cisplatin sensitivity of small-cell lung cancer through apoptosis. **Gene**. ISSN 1879-0038. 745:2020). doi: 10.1016/J.GENE.2020.144629.
67. FÖRSTERMANN, Ulrich; SESSA, William C. - Nitric oxide synthases: Regulation and function. **European Heart Journal**. ISSN 0195668X. 33:7 (2012) 829–837. doi: 10.1093/eurheartj/ehr304.
68. FUKUMURA, Dai; KASHIWAGI, Satoshi; JAIN, Rakesh K. - The role of nitric oxide in tumour progression. **Nature Reviews Cancer**. ISSN 1474175X. 6:7 (2006) 521–534. doi: 10.1038/nrc1910.

69. HUSSAIN, S. Perwez *et al.* - Nitric oxide is a key component in inflammation-accelerated tumorigenesis. **Cancer Research**. ISSN 00085472. 68:17 (2008) 7130–7136. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0410.
70. MO MONCADA, Salvador; MONCADA, S.; HIGGS, E. A. - Endogenous nitric oxide: Physiology, pathology and clinical relevance Production and Action of Local Mediators in the Rat Gastric Mucosa View project Endogenous nitric oxide: physiology, pathology and clinical relevance. **European Journal of Clinical Investigation**. 21:1991) 361–374. doi: 10.1111/j.1365-2362.1991.tb01383.x.
71. WANG, Qianli *et al.* - Mitochondrial NOS1 suppresses apoptosis in colon cancer cells through increasing SIRT3 activity. **Biochemical and biophysical research communications**. ISSN 1090-2104. 515:4 (2019) 517–523. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.05.114.