



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Filipa Isabel Brazão Aveiro

Relatórios de Estágio e Monografia Intitulada “Angiogénese e Metástases: Pontes Moleculares e Terapêuticas no Cancro”, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Marta Vieira, da Dra. Paula Fernandes e do Professor Doutor João Laranjinha apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Julho de 2022



UNIVERSIDADE D COIMBRA

Filipa Isabel Brazão Aveiro

Relatórios de Estágio e Monografia Intitulada “*Angiogénese e Metástases: Pontes Moleculares e Terapêuticas no Cancro*”, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Marta Vieira, da Dra. Paula Fernandes e do Professor Doutor João Laranjinha apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Julho de 2022

Eu, Filipa Isabel Brazão Aveiro, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2015251884, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “*Angiogénese e Metástases: Pontes Moleculares e Terapêuticas no Cancro*” 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, 14 de julho de 2022.

Filipa Isabel Brazão Aveiro

(Filipa Isabel Brazão Aveiro)

Agradecimentos

À minha mãe e ao meu pai por todo o carinho que me deram, por me apoiarem em tudo o que precisei e por me proporcionarem todo o conforto necessário para finalizar esta etapa académica.

À Dra. Marta Vieira e a toda a equipa dos Serviços Farmacêuticos do SESARAM pela receção e disponibilidade que demonstraram ao longo do estágio.

À Dra. Paula Fernandes e a toda a equipa da Farmácia de São Martinho, por me ajudarem em tudo ao longo do estágio e integrarem-me na equipa.

Ao Professor Doutor João Laranjinha por toda a disponibilidade proporcionada ao longo da realização da monografia e no esclarecimento de todas as dúvidas.

À minha prima Leonor por me animar e me aturar nos momentos mais difíceis.

À Sofia e à Sílvia por estarem presentes em tudo o que precisei e por me proporcionarem as melhores memórias ao longo destes anos.

Obrigada!

ÍNDICE

Parte 1 – Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar

Abreviaturas.....	9
Introdução.....	10
1. Organização dos Serviços Farmacêuticos.....	10
2. Ambulatório.....	11
3. Gestão e Aprovisionamento.....	11
3.1. Receção dos produtos farmacêuticos.....	12
3.2. Armazenagem.....	12
4. Distribuição.....	12
5. Rede de Frio e Farmacovigilância.....	13
6. Psicotrópicos e Estupefacientes.....	13
7. Hemoderivados.....	14
8. Gases Medicinais.....	14
9. Radiofarmácia.....	14
10. Unidade de Produção.....	15
10.1. Preparações Não Estéreis.....	15
10.2 Preparações Estéreis.....	15
11. Centro de Informação do Medicamento (CIM)	17
12. Análise Swott.....	17
12.1. Pontos Fortes.....	17
12.2. Pontos Fracos.....	18
12.3. Oportunidades.....	18
12.4. Ameaças.....	18
Conclusão.....	19
Anexos.....	20
Referências Bibliográficas.....	22

Parte 2 – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Abreviaturas.....	24
Introdução.....	25
1. Organização da Farmácia.....	25
2. Gestão de stocks, Encomendas e Aprovisionamento.....	25
3. Produtos vendidos na farmácia e Aconselhamento.....	26
4. Análise Swott.....	27
4.1. Pontos Fortes.....	27
4.2. Pontos Fracos.....	28
4.3. Oportunidades.....	28
4.4. Ameaças.....	29
5. Casos Clínicos.....	29
Conclusão.....	31
Referências Bibliográficas.....	32

Parte 3 – Monografia: “Angiogénese e Metástases: Pontes Moleculares e Terapêuticas no Cancro”

Abreviaturas.....	34
Resumo.....	36
Abstract.....	37
Introdução.....	38
1. Ciclo celular.....	39
1.1. Ciclo celular e a sua importância na origem do cancro.....	39
1.1.1. Oncogenes.....	40
1.1.2. Genes supressores de tumores.....	40
2. Os mecanismos que sustentam a Angiogénese tumoral e a formação de metástases.....	42
2.1. Splicing alternativo (AS) do pré-mRNA e a hipóxia no cancro.....	42
2.2. Imunidade e inflamação no cancro e o seu papel na Angiogénese tumoral.....	43
2.3. Plasticidade da invasão de células cancerígenas e a sua importância nas metástases	44
3. Metastização.....	46
3.1. Transição Epitelial-Mesenquimal.....	46
3.2. Interação com o estroma.....	47
3.3. Circulação de células tumorais.....	47
3.4. Extravasamento.....	47
3.5. Colonização e evolução das metástases.....	48
3.6. Influência do microambiente nas metástases.....	48
4. Angiogénese.....	49
4.1. Mediadores moleculares da angiogénese.....	50
4.1.1. Células inflamatórias.....	50
4.1.2. Fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)	51
4.1.3. Fator de crescimento dos fibroblastos (FGF)	51
4.1.4. Fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF).....	52
4.1.5. Fator de crescimento transformador β (TGF- β).....	52
4.1.6. Angiopoetinas (Angs).....	53
4.1.7. Citocinas e Quimiocinas.....	53
4.1.8. Fator de necrose tumoral α (TNF- α).....	54
4.1.9. Proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1)	54
4.1.10. Fator de crescimento dos hepatócitos (HGF) e C-Met.....	54
4.1.11. Metaloproteinasas da matriz (MMPs)	54
4.1.12. Adipocinas.....	55
4.1.13. Fator de crescimento semelhante à insulina (IGF)	55
4.1.14. Fator 1 induzido por hipóxia (HIF-1)	55
4.1.15. Integrinas.....	56
4.1.16. Moléculas de adesão de células endoteliais plaquetárias-1 (PECAM-1).....	56
4.1.17. Endostatina.....	56
4.1.18. Angiostatina.....	56
4.2. Regulação metabólica da angiogénese.....	57
5. Terapêutica anti-angiogénica.....	59

5.1. Medicamentos anti-angiogénicos utilizados atualmente.....	60
5.1.1. Bevacizumab.....	60
5.1.2. Pazopanib.....	60
5.1.3. Sorafenib.....	61
5.1.4. Aflibercept.....	61
5.1.5. Sunitinib.....	61
5.2. Oportunidades de novas terapêuticas anti-angiogénicas.....	62
5.2.1. Terapia Génica.....	62
5.2.2. Compostos naturais com propriedades anti-angiogénicas.....	62
5.2.3. Splicing alternativo do RNA (AS) como terapêutica anti-angiogénica.....	63
Conclusão.....	64
Referências Bibliográficas.....	65



PARTE I

*RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM
FARMÁCIA HOSPITALAR*

Abreviaturas

AUE – Autorização de utilização especial

CIM – Centro de Informação do Medicamento

DCI – Designação Comum Internacional

GM – Gases Medicinais

HEPA – High efficiency particulate air

HNM – Hospital Nélcio Mendonça

IA-SAÚDE – Instituto de Administração da Saúde e Assuntos Sociais, IP-RAM

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

IP-RAM – Instituto Público da Região Autónoma da Madeira

MDNS – Ministério da Defesa Nacional e da Saúde

RAM – Região Autónoma da Madeira

SC – Serviço Clínico

SESARAM – Serviço de saúde da Região Autónoma da Madeira, E.P.E

SF – Serviços Farmacêuticos

TDT – Técnico de Diagnóstico e Terapêutica

Introdução

O Hospital Dr. Nélio Mendonça foi inaugurado a 09.09.1973. Inicialmente foi denominado de Hospital Distrital do Funchal, mas ficou mais conhecido popularmente como Hospital Cruz de Carvalho, adotando o nome da localidade onde está inserido. No dia 1 de junho de 2003 o Hospital passou a fazer parte do Serviço de Saúde da Região Autónoma da Madeira, E.P.E., (SESARAM, EPERAM). Em 2009 o Hospital Distrital do Funchal passou a designar-se Hospital Dr. Nélio Mendonça¹.

Na Região Autónoma da Madeira o circuito do medicamento encontra-se sob tutela do Instituto de Administração de Saúde (IA-SAÚDE), que responde ao INFARMED.

Os Serviços Farmacêuticos pertencem ao SESARAM e garantem o fornecimento contínuo de medicamentos e dispositivos médicos aos cuidados primários de saúde que integram 47 Centros de Saúde e os Hospitais João de Almada, Marmeleiros e Nélio Mendonça².

O meu estágio nos Serviços Farmacêuticos do Hospital Dr. Nélio Mendonça teve início a 1 de fevereiro de 2021 e termo a 30 de março de 2021, com duração de 280 horas, divididas em 35 horas semanais.

I. Organização dos Serviços Farmacêuticos

Os SF estão divididos em: Armazéns e Sectores. Atualmente existem 3 armazéns, um de produtos farmacêuticos (01), um de grandes volumes e um de inflamáveis que cumpre todos os requisitos e normas de segurança.

Os Sectores incluem a Gestão, a Farmacotecnia que contém a manipulação de medicamentos não estéreis e a máquina de embalagem Auto-Print II – para comprimidos desblisterados e com blister, a Produção contém a manipulação de medicamentos estéreis e não estéreis e o CIM (centro de informação do medicamento). A distribuição integra os cuidados primários, urgências, psicotrópicos e estupefacientes, o ambulatório, distribuição por dose unitária, reposição por níveis de stock, o Kardex[®], a zona de frio e por fim a máquina de embalagem Blispack[®] Grifols – para comprimidos com blister.

O programa informático é o SRSFARMA com a denominação de ATRIUM, foi criado pelo Serviço de Informática do HNM, é um programa personalizado que vai de encontro às necessidades dos SF, apesar de apresentar muitas lacunas.

Os Serviços Farmacêuticos têm um horário permanente de 24 horas, sendo que o ambulatório geral tem um horário de funcionamento das 8:30h às 18:30h e o ambulatório de Hemato-Oncologia funciona das 9:00h às 16:00h.

2. Ambulatório

Os farmacêuticos do serviço de ambulatório são responsáveis pela dispensa de medicamentos, análise da prescrição médica, informar sobre o medicamento, preparar a dose a administrar, controlar reações adversas, interações medicamentosas e o grau de cumprimento farmacoterapêutico.

O regime de ambulatório pelo Serviço Farmacêutico Hospitalar cobre as terapêuticas exclusivas hospitalares, situações de emergência em que o fornecimento dos mesmos não pode ser assegurado pelas Farmácias Comunitárias e ainda o cumprimento de legislação específica que orientam o fornecimento de medicamentos para patologias crônicas.

Algumas dessas patologias e classes de medicamentos são: insuficiência renal crônica, doentes transplantados, fibrose quística, doenças do foro neurológico e endocrinológico, manipulados com medicamentos de uso exclusivo hospitalar, antineoplásicos, anticorpos monoclonais, antirretrovirais (HIV), antivíricos (Hepatite B e C), hipertensão pulmonar e antibióticos de reserva (antibióticos exclusivos hospitalares) que para ser possível a sua dispensa, além da receita têm de vir acompanhados de um antibiograma que justifique a escolha daquele antibiótico pelo médico.

3. Gestão e Aprovisionamento

O farmacêutico deste agrupamento é responsável pela gestão de *stocks*, elaboração de previsões de consumo, atualização do caderno de encargos dos concursos para aquisições, elaboração do pedido de compra e nota de encomenda, aquisição de medicamentos de uso esporádico e de medicamentos que necessitem de autorizações especiais de utilização (AUE), supervisão da receção de medicamentos e outros produtos, aquisição e receção de substâncias estupefacientes e psicotrópicas.

3.1. Receção dos produtos farmacêuticos

A receção implica: conferência qualitativa e quantitativa dos produtos farmacêuticos rececionados com a guia de remessa, conferência da guia de remessa com a nota de encomenda, registo e arquivo da documentação técnica, registo de entrada do medicamento, movimentação do original da guia de remessa para o serviço de aprovisionamento a fim de permitir o pagamento pelos serviços financeiros.

3.2. Armazenagem

O espaço de armazenamento deve garantir segurança na temperatura (máxima de 25°C), ausência de luz, humidade inferior a 60%, rotação de stock adequada (*first in first out*). O sistema de refrigeração deve ter uma temperatura entre 2°C-8°C, deve ser isento de condensação de humidade e permitir o controlo e registo de temperatura. Os estupefacientes e psicotrópicos encontram-se num local fechado que apenas permite acesso ao farmacêutico responsável. Os produtos inflamáveis encontram-se num armazém separado com um sistema de ventilação próprio e um detetor de fumos.

4. Distribuição

O farmacêutico no sector da distribuição é responsável pelo aviamento e dispensa de medicamentos aos Serviços Clínicos, este periodicamente desloca-se ao SC, de forma a poder acompanhar a visita clínica e proceder à confirmação da prescrição médica, verificar se não existem interações medicamentosas, se o regime posológico instituído é adequado e por fim verificar se não existem duplicações de terapêutica, de forma a elaborar o perfil farmacoterapêutico do doente em suporte informático para que seja possível a preparação da medicação por distribuição individual de dose unitária.

Os TDT procedem à preparação das gavetas da medicação individual através do Kardex[®] que dispensa automaticamente a medicação, as quais posteriormente são conferidas pelos farmacêuticos responsáveis.

Em cada SC existe um armário de dotação fixa, denominado de Armário de Urgência, de composição restrita e adaptada às características do SC definidas pelo farmacêutico, o diretor de serviço e o enfermeiro-chefe, à qual é da responsabilidade do farmacêutico a reposição do nível de stock dos medicamentos e produtos farmacêuticos como: corretivos de volémia, desinfetantes, dieta e manipulados.

Alguns SC possuem uma Pyxis®, máquina de dispensa automática de medicamentos que substitui os Armários de Urgência, esta máquina permite uma maior segurança e controlo, minimizando erros de distribuição e administração. Diariamente é automaticamente impressa a lista dos fármacos a repor procedendo-se ao seu aviamento pelos SF. Os serviços que possuem este sistema são: as Urgências, a Cirurgia, a Pediatria e o Hospital dos Marmeleiros.

5. Rede de Frio e Farmacovigilância

A rede de frio é constituída por sistemas de leitura, registo de temperatura e procedimentos de forma a garantir a preservação dos produtos farmacêuticos em condições de refrigeração adequadas à manutenção da sua eficácia ao longo do armazenamento, distribuição e administração. Se registado um desvio de temperatura, o produto fica em quarentena devidamente identificado, para posteriormente o farmacêutico responsável contactar o laboratório de forma a conhecer o procedimento a adotar.

A Farmacovigilância permite a monitorização e notificação de reações adversas aos medicamentos, para tal o farmacêutico responsável acede ao portal das Reações Adversas Medicamentosas através do site do INFARMED, preenchendo um questionário ao qual é necessário descrever a reação adversa, o medicamento suspeito, os medicamentos concomitantes, o doente, o profissional de saúde notificador e posteriores comentários. As reações devem ser comunicadas logo que possível e num período não superior a 15 dias.

6. Psicotrónicos e Estupefacientes

Estes medicamentos devido às suas características e legislação própria têm apenas um farmacêutico responsável pela sua dispensa. Eles são requisitados aos SF em modelo anexo X, onde consta a designação em DCI, dose, forma farmacêutica, código do serviço requisitante, número mecanográfico, nome do doente, cama/processo, quantidade prescrita, data e assinatura do enfermeiro que administra. O anexo X é assinado pelo farmacêutico e pelo enfermeiro após a dispensa dos medicamentos por fim, é anexado o documento original com a cópia triplicada da receita.

7. Hemoderivados

A dispensa de derivados do plasma humano obedece à legislação aplicada pelo MDNS de forma a uniformizar e organizar os ficheiros hospitalares, para que seja possível a identificação dos lotes/fabricantes/distribuidores dos medicamentos hemoderivados e dos doentes aos quais são administrados. Estes medicamentos são: albumina, imunoglobulinas, concentrado anti-trombina III e fibrinogénio humano. São requisitados online aos SF ou através do modelo 1804 acompanhados do modelo APR-I com as folhas VIA SERVIÇO e VIA FARMÁCIA, por fim são entregues aos SC os hemoderivados requisitados acompanhados pela folha VIA SERVIÇO.

8. Gases Medicinais

Os GM são da responsabilidade dos SF, é destacado um farmacêutico para avaliar o seu consumo, supervisionar o controlo das manutenções da rede de distribuição, assegurar o cumprimento das normas, atualizar a documentação da instalação e controlar o prazo de validade dos cilindros armazenados.

O farmacêutico assume o compromisso de acompanhamento farmacoterapêutico, vigilância e gestão do risco, de forma a ser possível a utilização racional dos gases medicinais.

Os GM podem ser considerados medicamentos como: Ar medicinal, Oxigénio, Protóxido de Azoto, Protóxido de Azoto + Oxigénio, Óxido Nítrico e Xénon, ou podem ser considerados dispositivos médicos como: Árgon, Azoto líquido, Dióxido de Carbono, Hélio líquido, Hexafluoreto de enxofre e Octafluoropropano.

9. Radiofarmácia

A radiofarmácia está localizada no serviço de Medicina Nuclear, aqui realiza-se a preparação de radiofármacos para a execução de exames denominados Cintigrafias. Numa Cintigrafia administram-se radiofármacos (baixas doses de radiação), normalmente por via endovenosa, este marcador fixa-se num órgão ou local específico, permitindo o seu estudo por imagens num equipamento designado de câmara-gama³.

O farmacêutico é responsável pela preparação dos radiofármacos consoante os exames a serem realizados naquele dia, estabelecer procedimentos para avaliar a qualidade dos materiais que chegam antes de os utilizar, utilizar técnicas assépticas e proteção contra a

radiação, efetuar o controlo de qualidade e analítico das técnicas realizadas, a calibração do equipamento e o controlo microbiológico das preparações⁴.

10. Unidade de Produção

10.1. Preparações Não Estéreis

Na produção de manipulados não estéreis o farmacêutico é responsável pelo estudo de novas formulações, pela elaboração da ficha técnica de preparação, pela elaboração dos rótulos e pela supervisão da preparação e controlo de qualidade dos medicamentos manipulados não estéreis.

Na receção da prescrição médica é necessário a sua validação pelo farmacêutico, que posteriormente estuda a fórmula magistral mais adequada para a preparação deste medicamento.

Para a manipulação destes medicamentos é necessário um material específico e uma sala com temperatura controlada e regularmente higienizada. Apenas o pessoal autorizado e devidamente equipado poderá circular nesta sala.

As matérias-primas devem ser acompanhadas de prazo de validade, certificado de análises e ficha de segurança, estes documentos são verificados e validados pelo farmacêutico.

10.2. Preparações Estéreis

O Farmacêutico coordenador da unidade de produção tem a responsabilidade de estabelecer o método de controlo do processo de preparação, planificar o trabalho na zona de preparação estéril, verificar a qualidade dos equipamentos, aprovar os procedimentos, estabelecer as condições de higiene e por fim, validar a ficha técnica e os procedimentos de manipulação.

Os restantes farmacêuticos da unidade de produção estudam as novas formulações, elaboram os rótulos e a ficha técnica de preparação, supervisionam a preparação dos medicamentos manipulados estéreis e são responsáveis pelo controlo de qualidade dos medicamentos manipulados.

O local de preparação dos medicamentos manipulados estéreis é constituído por uma antecâmara que tem um diferencial de pressão positivo, o que permite definir diferentes níveis de limpeza controlando o fluxo de ar, armários onde é guardado o material clínico, as bolsas de nutrição parentérica e todas as soluções auxiliares na preparação dos manipulados, um

frigorífico que contém os medicamentos a serem manipulados e uma sala limpa contendo uma câmara de fluxo laminar horizontal onde são preparadas as manipulações estéreis. A câmara de preparação é equipada por um filtro HEPA (High Efficiency Particulate Air), que retira os aerossóis e os microrganismos provenientes do ar na zona de preparação.

Na sala limpa só podem entrar os operadores devidamente equipados com protetor de sapatos, máscara, bata e touca. Antes de entrar para a sala limpa os operadores lavam as mãos com um sabão desinfetante, posteriormente dentro da sala limpa colocam as luvas estéreis. O farmacêutico operador é responsável por efetuar a ficha de preparação e selecionar o fármaco a utilizar na manipulação.

A nutrição parentérica do adulto é preparada através de bolsas tricompartimentadas que contém lípidos, glucose, aminoácidos e eletrólitos, é aditivado às segundas, quartas e sextas multivitaminas hidrossolúveis e às terças e sextas oligoelementos.

O farmacêutico é responsável por elaborar uma folha de preparação que é verificada por um segundo farmacêutico. A sua responsabilidade passa pela elaboração dos rótulos contendo as informações importantes sobre a preparação tais como: a data de preparação, o prazo de validade, o número de lote interno, a composição da bolsa, a osmolaridade, o volume total, o nome do doente e o seu esquema de nutrição parentérica e por fim a identificação do serviço no qual o doente está internado. As preparações são acondicionadas num saco próprio e transportadas numa mala térmica.

A folha de preparação da nutrição parentérica para os recém-nascidos é efetuada pelo farmacêutico a partir da prescrição realizada pela unidade de cuidados intensivos neonatais e pediátricos. O farmacêutico elabora os rótulos pré-impreso contendo: a identificação da solução de nutrição parentérica, o nome do doente, o serviço, a data de preparação, o prazo de validade, o número de lote interno, a composição da bolsa, a osmolaridade, o volume total e o ritmo de perfusão em 24 horas. No caso da preparação ter um volume inferior ou igual a 55 ml, esta é efetuada numa seringa luerlock de 60 ml opaca e colocada numa manga estéril e selada.

O controlo microbiológico é efetuado nas preparações parentéricas neonatais e pediátricas através da colocação de uma pequena quantidade da solução preparada num caldo identificado por uma etiqueta, selado num saco e enviado para o laboratório de análises clínicas.

Na sala limpa o controlo microbiológico é efetuado de 15 em 15 dias através da colocação de placas de gelose-chocolate nas extremidades da câmara de fluxo laminar e na mesa de apoio.

11. Centro de Informação do Medicamento (CIM)

O CIM é o local onde se encontra toda a informação bibliográfica relacionada com os medicamentos, dispositivos médicos e produtos de saúde, tais como revistas científicas, livros e artigos de revisão. O farmacêutico é responsável por analisar as dúvidas que são colocadas por outros profissionais de saúde sobre os medicamentos, sendo que a maioria são acerca da forma de administração, da estabilidade e da manipulação.

12. Análise Swott

12.1. Pontos Fortes

1. Organização do plano de estágio – a boa organização do plano de estágio, onde todas as semanas passava por um setor diferente, permitiu-me ter uma boa noção de todas as funções realizadas pelos serviços farmacêuticos num curto período de tempo.

2. Apoio e auxílio durante o estágio – todos os farmacêuticos e técnicos de farmácia que interagi durante o estágio demonstraram disponibilidade para o esclarecimento de quaisquer dúvidas e ajudaram-me a compreender todas as diversas funções efetuadas pelos diferentes setores.

3. Realização de algumas funções no setor de ambulatório e na unidade de produção – no setor de ambulatório tive a oportunidade de ajudar na dispensa da medicação e na preparação da medicação para enviar aos centros de saúde. Na unidade de produção tive a oportunidade de preencher os documentos para controlo da quantidade de material utilizado e participei na pesquisa de informação de um trabalho sobre a nutrição parentérica.

4. Unidades curriculares de Farmácia Hospitalar e Farmácia Clínica – estas unidades curriculares proporcionaram-me uma noção dos setores e das funções realizadas pelos serviços farmacêuticos hospitalares. A consulta do material fornecido nas aulas ajudou-me a esclarecer algumas dúvidas que surgiram durante o estágio.

12.2. Pontos Fracos

1. Pouco tempo de estágio – o estágio é realizado em apenas 2 meses, sendo este tempo pouco para compreender de uma forma aprofundada e detalhada todas as funções realizadas nos diferentes setores.

2. Covid-19 – devido ao Covid-19 houve alguns locais que não pude visitar como o Hospital dos Marmeleiros e o Hospital Dr. João de Almada.

3. Falta de preparação pela faculdade – apesar de termos abordado alguns assuntos sobre farmácia hospitalar em algumas unidades curriculares, existe uma falha na abordagem de medicamentos para fibrose quística e para doentes transplantados. A introdução de uma aula prática laboratorial para a preparação de uma bolsa de nutrição parentérica e para a reconstituição de medicamentos tornava-se uma mais-valia para o plano curricular e para quem futuramente exercer funções nos serviços farmacêuticos hospitalares.

12.3. Oportunidades

1. Conhecer os serviços – tive a oportunidade de conhecer todos os serviços médicos e toda a medicação utilizada. No serviço de nefrologia explicaram-me todos os procedimentos durante uma hemodiálise, e ainda tive de oportunidade de conhecer a sala onde é realizada a osmose inversa para o tratamento da água utilizada na hemodiálise. Por fim foi-me fornecido um artigo sobre a importância do farmacêutico no acompanhamento dos doentes que realizam hemodiálise.

2. Trabalho sobre a consulta farmacêutica – realizei um trabalho sobre os parâmetros a utilizar numa consulta farmacêutica e os seus benefícios para os doentes, pois a consulta farmacêutica é um projeto que futuramente poderá ser introduzido nos serviços farmacêuticos.

3. Radiofarmácia – a Medicina Nuclear é um serviço recente no Hospital Nélcio Mendonça e apesar da radiofarmácia estar localizada fora dos serviços farmacêuticos, tive a oportunidade de conhecer o serviço e observar a preparação dos radiofármacos.

12.4. Ameaças

1. Limitações no sistema informático – apesar do sistema informático ser desenvolvido com base nas necessidades do SESARAM, este apresenta muitas limitações principalmente na conexão com outros programas informáticos, como por exemplo o programa específico da

Pixys[®], o que impossibilita a seleção da medicação específica para cada doente internado através da Pixys[®].

2. Preparação dos citostáticos – os citostáticos não são preparados pelos serviços farmacêuticos, são preparados pelos enfermeiros do serviço de Hemato-Oncologia. Como não existe a informatização dos protocolos de quimioterapia, não são fornecidas as condições necessárias de segurança para a manipulação dos citostáticos pelos farmacêuticos.

Conclusão

Com este estágio tive conhecimento de toda a envolvimento e importância do farmacêutico a nível hospitalar, foi uma experiência muito gratificante pois tive a oportunidade de participar em algumas atividades e realizar um trabalho de forma a orientar a implementação das consultas farmacêuticas a nível hospitalar.

Anexos


REGIÃO AUTÓNOMA DA MADEIRA
SERVÍCIO DE SAÚDE DA REGIÃO AUTÓNOMA DA MADEIRA, E.P.E.
COMISSÃO DE FARMÁCIA E TERAPÉUTICA

JUSTIFICAÇÃO DE RECEITUÁRIO DE ANTIMICROBIANOS

Hospital/Centro de Saúde _____ Serviço _____
 Data _____ Processo Clínico nº _____
 Nome do Doente _____
 Diagnóstico Clínico Provável _____

Tipo de Doente: Cirúrgico Médico

Proveniência: Comunidade Hospital Associada aos Cuidados de Saúde

Local de infeção: Pele e Tecidos Moles Musculoesquelético Respiratório

Gastrointestinal Urinário Genital Bacteremia S. Nervoso Central

Outro Desconhecido

Agentes Etiológicos Prováveis: Gram + Gram - Anaeróbios Fungos

Tipo de Antibioterapia: Profilática Empírica Dirigida

Agentes Isolados: Sim Não Testes de Sensibilidade: Sim Não

Agentes Microbiológicos	Antimicrobianos Sensíveis	Antimicrobianos Resistentes

* anexar cópia da microbiologia

Distúrbio de Órgãos: Renal Hepática

Nome Farmacológico do Antimicrobiano: _____

Formulação: Ampola Cápsula Comprimido Suspensão Xarope

Pomada Creme Outro: _____

Posologia: _____ Duração Prevista do Tratamento: _____

Antimicrobianos Efeetuados Anteriormente:

Antimicrobianos	Duração da Terapêutica

Razões da Prescrição do Antimicrobiano Extra-Formulário:

Assinatura e nº meo. _____

Figura 1 – Justificação de Receituário de Antimicrobianos

Gases Medicinais Medicamentosos

Forma Farmacêutica	Gás Medicinal	Aplicação
Gás para inalação	Óxido nítrico (NO)	Vasodilatação
Gás medicinal comprimido Gás completamente gasoso quando acondicionado sob pressão, a uma temperatura de 50°C	Ar medicinal (N ₂ + O ₂)	Ventilação
	Oxigénio (O ₂)	Oxigenoterapia
	Pré-mistura (O ₂ + N ₂ O)	Analgesia
Gás medicinal criogénico Gás que se encontra liquefeito à pressão de 1,013 bar, a uma temperatura inferior a 150°C	Oxigénio (O ₂)	Oxigenoterapia
Gás medicinal liquefeito Gás parcialmente líquido quando acondicionado sob pressão, a uma temperatura de 50°C	Protóxido de azoto (N ₂ O)	Anestesia
	Xénon (Xe)	

Gases Medicinais Dispositivos Médicos

Gás Medicinal	Aplicação
Azoto líquido (N ₂)	Armazenamento e conservação de células
Dióxido de carbono (CO ₂)	Criocirurgia, laparoscopia, oftalmologia
Hélio (He)	Criocirurgia, crioterapia, electrocoagulação
Hexafluoreto de enxofre (SF ₆)	Cirurgia ocular
Octafluoropropano (C ₃ F ₈)	Cirurgia ocular

Figura 2 – Os Gases Medicinais e a sua aplicação

Referências Bibliográficas

1. Serviço de Saúde da RAM, EPERAM - **História** - Disponível em: <https://www.sesaram.pt/portal/o-sesaram/o-sesaram/as-nossas-unidades/hospitais/hospital-dr-nelio-mendonca/historia>
2. Serviço de Saúde da RAM, EPERAM - **Centros de Saúde** - Disponível em: <https://www.sesaram.pt/portal/utente/diretorio-de-servicos/centros-de-saude>
3. Unilabs - **Cintigrafia: o que é, que tipos existem e para que serve?** - Disponível em: <https://blog.unilabs.pt/exames-medicos/cintigrafia/>
4. GILLINGS, Nic; HJELSTEUN, Olaug; BALLINGER, Jim; BEHE, Martin; DECRISTOFORO, Clemens; ELSINGA, Philip; FERRARI, Valentina; PEITL, Petra K.; KOZIOROWSKI, Jacek; LAVERMAN, Peter; MINDT, Thomas L.; NEELS, Oliver; OCAK, Meltem; PATT, Marianne; TODDE, Sergio - **Guideline on current good radiopharmacy practice (cGRPP) for the small-scale preparation of radiopharmaceuticals**. EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry 6 (2021) 8.
5. ILAPHAR - **Rastreabilidade de medicamentos Hemoderivados. Legislação e procedimentos** - Disponível em: <https://www.ilaphar.org/rastreabilidade-de-medicamentos-hemoderivados-legislacao-e-procedimentos/>



PARTE 2

*RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM
FARMÁCIA COMUNITÁRIA*

Abreviaturas

CNP – Código Nacional do Produto

EN – Norma Europeia

FI – Folheto Informativo

FOS – Frutooligossacáridos

FSM – Farmácia de São Martinho

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

ISO – Organização Internacional de Normalização

MNSRM – Medicamento não sujeito a receita médica

MSRM – Medicamento Sujeito a Receita Médica

NP – Norma Portuguesa

PVP – Preço de Venda ao Público

RCM – Resumo das Características do Medicamento

SARS-CoV-2 – Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2

Introdução

A Farmácia de São Martinho (FSM) pertence à empresa Farmácia do Chafariz Sociedade Unipessoal Limitada, localiza-se no Caminho de São Martinho 15D e encontra-se certificada pela NP EM ISO 9001 de 2015. O horário de funcionamento é todos os dias das 9h às 22h¹.

Os objetivos da Farmácia de São Martinho são: o envolvimento de todos os colaboradores, a gestão e a formação de recursos humanos, a parceria com fornecedores, o estabelecimento de protocolos nas diferentes áreas de atuação do farmacêutico, como a dispensa de medicamentos e produtos de saúde, a adesão à terapêutica, a informação sobre o uso racional dos medicamentos, a participação em programas que visam promover a saúde e prevenir a doença e por último a avaliação do grau de satisfação dos utentes¹.

I. Organização da Farmácia

A Farmácia de São Martinho está localizada numa zona habitacional que abrange um número elevado de residentes, e tem como diretora técnica a Dra. Paula Fernandes. A Farmácia possui cinco balcões de atendimento todos equipados com computadores, acrílico protetor e leitores óticos de código de barras, dois gabinetes médicos, uma zona de receção de encomendas e armazenamento de *stock*, um *robot*, dois gabinetes de recursos humanos e um frigorífico para o armazenamento de injetáveis, vacinas, colírios e todos os produtos e medicamentos que necessitem de ser conservados entre 2°C a 8°C.

O programa utilizado pela farmácia é o 4DigitalCare e para a manipulação do dinheiro utiliza-se o CashGuard que permite a movimentação de dinheiro de forma mais segura e eficaz. O atendimento é feito por um sistema de senhas A, B e C, em que A é o atendimento geral, B é o atendimento prioritário e C é para o levantamento de encomendas.

2. Gestão de stocks, Encomendas e Aprovisionamento

De forma a obter um bom funcionamento da farmácia e a dar resposta a todas as necessidades dos utentes é necessário haver uma boa gestão de *stocks*, para que não falte medicamentos e produtos diariamente vendidos na farmácia.

O *stock* mínimo e máximo de cada produto vendido tem por base a quantidade média vendida mensalmente e anualmente na farmácia. Os funcionários da farmácia podem alterar o *stock* mínimo de um produto de forma a dar resposta ao aumento do seu consumo. As

reservas podem ser pedidas através de encomendas instantâneas diretamente aos fornecedores.

O principal fornecedor é escolhido consoante a oferta mais baixa no preço de compra e nos maiores descontos fornecidos à farmácia na compra de grandes quantidades de produtos e medicamentos. A Farmadeira by Plural é o fornecedor principal da FSM, sendo os outros o Centro Farmacêutico, a Entregafarm, a Alliance Healthcare e a Mamepe. As grandes encomendas de cosméticos são pedidas diretamente aos laboratórios, dependendo dos acordos obtidos pela farmácia.

As encomendas são realizadas ao fim do dia no próprio sistema utilizado pela farmácia, ocasionalmente podemos contactar o fornecedor para verificar a disponibilidade de um produto e encomendá-lo.

A receção das encomendas é efetuada através do sistema, a entrada pode ser feita manualmente ou através do *robot*, sendo esta exclusivamente para produtos do *robot*. As encomendas chegam à farmácia em caixas próprias e seladas de segunda a sexta, as caixas vêm numeradas e acompanhadas da fatura em duplicado. Na fatura está descrito detalhadamente a quantidade de produtos, o CNP de cada um, o preço de aquisição, os descontos efetuados para a farmácia, e para os MSRM vem descrito na fatura o preço de venda ao público imposto pelo INFARMED, as últimas páginas da fatura descrevem os medicamentos esgotados que foram encomendados.

Após rececionada a encomenda os produtos são etiquetados com o PVP e o CNP, e guardados nos respetivos locais, aqueles que têm o prazo de validade mais curto são colocados à frente das prateleiras e das gavetas, de modo a serem vendidos primeiro.

Todos os meses são impressas as folhas que contêm os produtos com prazo de validade a terminar em 60 dias e a quantidade existente na farmácia de cada produto. É necessário procurar e retirar todos esses produtos das prateleiras e gavetas, para serem posteriormente devolvidos aos fornecedores. Os cosméticos com prazo de validade curto são colocados num expositor sinalizado à entrada da farmácia com o respetivo desconto.

3. Produtos vendidos na farmácia e Aconselhamento

A maioria das vendas na farmácia são MNSRM, MSRM e suplementos alimentares como as vitaminas. Na dispensa destes medicamentos é necessário aconselhar o utente na posologia, no modo de conservação, nos possíveis efeitos secundários e nas interações medicamentosas.

No aconselhamento dos MSRM é necessário seguir a posologia indicada pelo médico e colocar uma etiqueta com a posologia descrita na receita médica. Para os MNSRM aconselhamos a posologia recomendada pelo laboratório de fabrico que se encontra no FI ou no RCM, porém quando o MNSRM é dispensado através de receita médica é necessário recomendar sempre a posologia indicada pelo médico.

Além dos medicamentos, na FSM são vendidos muitos produtos de cosmética, recomendados consoante as necessidades do utente. Existem também dispositivos médicos como canadianas, pensos, meias de compressão, ligaduras, seringas, máscaras cirúrgicas e FFP2, luvas de latex e vinilo e termómetros.

Os medicamentos e produtos veterinários apesar de não serem vendidos com elevada frequência, também fazem parte dos produtos em *stock* na farmácia, estes englobam os medicamentos para parasitas internos e externos, contraceptivos hormonais para gatos e cães, suplementos alimentares, antibióticos especialmente formulados para animais de estimação que para a sua venda é necessário uma receita médica veterinária e por fim são vendidos produtos de cosmética como pastas de dentes, escovas e shampoo para animais.

Os produtos destinados a necessidades alimentares especiais como leite em pó para lactentes, leites de transição, farinhas lácteas e não lácteas, bebidas e farinhas com elevado teor proteico e calórico, são produtos importantes e com alguma procura por parte dos utentes.

Os produtos fitoterapêuticos são recomendados em algumas situações como alternativa aos medicamentos tradicionais, porque apresentam menos efeitos secundários e uma eficácia equivalente aos medicamentos tradicionais.

4. Análise Swott

4.1. Pontos Fortes

1. Integração e receção na equipa – todos os elementos da equipa demonstraram sempre disponibilidade para ajudar-me com todas as dúvidas que foram surgindo ao longo do estágio, incentivando a minha participação nos projetos propostos pela farmácia.

2. Serviços fornecidos pela farmácia e Horários de funcionamento – a FSM oferece a possibilidade de marcação de consultas de nutrição, consultas de podologia, consultas médicas de ortopedia e consultas de enfermagem para a administração de injetáveis, o que

acaba por atrair mais utentes. A FSM é das poucas farmácias com horário alargado no Funchal até às 22h, o que facilita os utentes que saem das urgências hospitalares.

3. Automatização da farmácia – para dar resposta à grande afluência de utentes na FSM, foi instalado um *Robot* que torna o atendimento mais rápido, diminuindo a troca de medicamentos semelhantes na dispensa da medicação.

4. Unidade Curricular de Indicação Farmacêutica – é uma unidade curricular essencial para o bom aconselhamento farmacêutico, ajuda-nos a ter uma noção dos MNSRM existentes no mercado e quais os mais adequados recomendar para as respetivas patologias.

4.2. Pontos Fracos

1. Objetivos de venda – na FSM os funcionários são encorajados a vender aos utentes os medicamentos que dão mais lucro para a farmácia, o que pode tornar-se inconveniente no aconselhamento, pois o que o farmacêutico considera mais adequado pode não ser aquele que dê mais margem de lucro. Na dispensa de receitas médicas somos também encorajados a vender o laboratório que forneça uma maior margem de lucro, o que por vezes, fica mais dispendioso para o utente, pois esse laboratório pode ter o medicamento menos participado e mais caro do que os outros laboratórios disponíveis.

2. Dermocosmética – o aconselhamento em dermocosmética e os ingredientes ativos nos cosméticos para os diferentes problemas de pele, deveria ser um tema abordado com maior frequência e detalhe ao longo do curso, pois é uma área de elevada importância para a farmácia comunitária.

4.3. Oportunidades

1. Acesso a formações – tive a oportunidade de participar em duas formações uma presencial da Uriage®, e uma *online* da Klorane®. Também tive acesso às plataformas *online* da Academia Cosmética Ativa e da Pierre Fabre® Learning to Care, que fornecem diversas formações para melhorar o aconselhamento dos cosméticos.

2. Realização de testes COVID-19 – aprendi a realizar testes de antigénio nasais e nasofaríngeos para detetar o vírus SARS-CoV-2 e tive a oportunidade de integrar a equipa que realizava toda a logística associada com os testes de antigénio executados pela farmácia.

3. Aquisição de maior confiança no atendimento – com a prática e a experiência adquiri maior confiança e segurança no atendimento, aprofundei o conhecimento sobre os diversos

produtos na farmácia através da pesquisa de informações e do parecer dos utentes na eficácia dos produtos que lhes foram aconselhados.

4.4 Ameaças

1. Diminuição do poder de compra – devido à pandemia provocada pelo vírus SARS-CoV-2 e à inflação nos preços dos produtos, o rendimento de muitos utentes diminuiu o que consequentemente provocou uma diminuição no poder de compra, afetando o lucro de vendas obtido pela farmácia.

2. Competitividade de mercado – com o surgimento de *web sites* que facilitam a compra de produtos a preços inferiores aos praticados na farmácia e fornecendo maior comodidade para o utente, pois não necessitam de se deslocar para efetuar a compra, as farmácias têm uma elevada quebra a nível de vendas, principalmente de produtos de cosmética.

5. Casos Clínicos

1º Caso Clínico

Uma utente deslocou-se à farmácia com cólicas abdominais e diarreia. Para as dores abdominais recomendei o Buscopan® 10 mg 1 a 2 comprimidos 3 vezes ao dia até 3 dias, tem como princípio ativo a Butilescopolamina, é um antiespasmódico que exerce uma ação espasmolítica sob a musculatura lisa do aparelho gastrointestinal e das vias biliares e genito-urinárias, está indicado no alívio da dor e desconforto abdominal associado a espasmos transitórios e moderados do trato gastrointestinal².

Para a diarreia recomendei Imodium Rapid® 2 mg comprimido orodispersível, na primeira toma recomendei 2 comprimidos, aconselhei posteriormente a toma de 1 comprimido a cada dejeção diarreica, não podendo ultrapassar os 8 comprimidos por dia. Este medicamento está indicado no tratamento sintomático das diarreias agudas e crónicas, o seu princípio ativo é o Cloridrato de Loperamida que reduz o peristaltismo propulsivo, aumentando o tempo de trânsito intestinal, reduz também a incontinência³.

Por fim, recomendei a ingestão de muitos líquidos ao longo do dia de modo a prevenir a desidratação, que poderá ser provocada pela diarreia.

2º Caso Clínico

Uma utente deslocou-se à farmácia a solicitar um comprimido para enjoo de movimento que não provocasse sonolência, pois iria participar numa viagem de barco e não

queria ficar sonolenta. Posto isto, recomendei o Phytocid® 2 cápsulas de toma única no dia da viagem, é um suplemento alimentar à base de gengibre e curcuma⁴.

O gengibre favorece o processo de digestão e contribui para a normalização da função intestinal, principalmente nas viagens, evita também os vômitos, as náuseas e as tonturas. A curcuma facilita a digestão, pois favorece a produção de líquido digestivo, contribuindo para o conforto digestivo⁴.

3º Caso Clínico

Uma utente deslocou-se à farmácia pois sentia uma pressão e ligeira dor na bexiga, a necessidade de urinar com frequência e ardor ao urinar, sintomas que indicavam uma infeção urinária. A utente informou-me que os sintomas começaram no dia anterior e que era frequente ter infeções urinárias.

Para o desconforto urinário recomendei Advancis® Uritabs 2 comprimidos após o pequeno-almoço e jantar durante 7 dias. Uritabs é um suplemento alimentar à base de arando vermelho, uva-ursina e frutooligossacáridos (FOS), esta associação ajuda no alívio dos sintomas associados às infeções do trato urinário não complicadas e na prevenção de recidivas⁵.

O arando vermelho é constituído por polifenóis que atuam como agentes anti-adesivos na prevenção e inibição da adesão dos patogénicos aos recetores das células uropiteliais, constituindo este um passo importante para a patogénese das infeções urinárias⁶.

Para a higiene íntima recomendei o gel de lavagem Lactacyd® Parma Antisséptico, formulado para prevenir e inibir o crescimento bacteriano, prevenir infeções e reforçar as defesas naturais da zona íntima⁷.

4º Caso Clínico

Um utente deslocou-se à farmácia com obstipação, barriga inchada e flatulência. Para a obstipação recomendei Fibro Tecnilor®, é um suplemento alimentar que tem uma elevada concentração de Sene e Cáscara sagrada, estes compostos são laxantes de contacto pois estimulam a contração da musculatura intestinal e promovem a acumulação de água de modo a amolecer as fezes, facilitando a eliminação das mesmas. Recomendei a toma de um comprimido juntamente com a ingestão de água ao longo do dia⁸.

Para a flatulência e barriga inchada aconselhei o Aero-OM® 125 mg 1 cápsula mole 4 vezes ao dia, depois das refeições no máximo durante 10 dias. O princípio ativo é o Simeticone,

uma substância quimicamente inerte que atua modificando a tensão superficial das bolhas gasosas⁹.

5º Caso Clínico

Um utente deslocou-se à farmácia com comichão nos olhos, apresentava-os ligeiramente vermelhos, mas não tinha secreções pegajosas, o que indicava uma conjuntivite alérgica. Também se queixava de comichão nos ouvidos, muitos espirros ao longo do dia e o nariz congestionado, sintomas que correspondiam a uma rinite alérgica.

Para a conjuntivite alérgica aconselhei o Allergodil[®] colírio 1 gota em cada olho 2 vezes ao dia no máximo até 6 semanas. O princípio ativo é um anti-histamínico denominado de azelastina, é um antagonista H1 seletivo que impede a ligação da histamina ao seu recetor, também tem propriedades anti-inflamatórias^{10,11}.

Para a rinite alérgica aconselhei o Zyrtec[®] 10 mg 1 comprimido à noite, é um anti-histamínico oral não sedativo com o princípio ativo cloridrato de cetirizina indicado para rinite alérgica, sazonal e perene. É um antagonista potente e seletivo dos recetores H1 periféricos, que impede a ação da histamina¹².

De modo a aliviar a congestão nasal, aconselhei a lavagem nasal diária com Stérimar Nariz Alérgico, tem na sua composição manganésio que ajuda na limpeza e na eliminação de alérgenos que entram em contacto com a mucosa nasal.

Conclusão

Este estágio foi essencial para a minha formação, pois aprofundei e enriqueci os meus conhecimentos na área dos medicamentos, suplementos alimentares e cosméticos. Adquiri experiência a nível profissional e conhecimento sobre o impacto que as farmácias têm nas comunidades e todo o trabalho que é realizado pela equipa profissional com o objetivo de ajudar e agradar o utente de forma a melhorar a sua qualidade de vida.

Referências Bibliográficas

1. Farmácia do Chafariz Sociedade Unipessoal Limitada - **Farmácia São Martinho** - Disponível em: <https://www.chafarizfarma.pt>
2. INFARMED. IP. - **RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO Buscopan®**. EMA. - Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
3. INFARMED. IP. - **RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO Imodium Rapid®**. EMA. - Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
4. AlchemLife® - **PHYTOCID®** - Disponível em: <https://www.phytocid.es>
5. Advancis® Pharma - **Advancis® Uritabs** - Disponível em: <https://www.advancispharma.com/pt/cuidados-femininos/uritabs/>
6. LLANO, Dolores G.; MORENO-ARRIBAS, Victoria; BARTOLOMÉ, Begoña - **Cranberry Polyphenols and Prevention against Urinary Tract Infections: Relevant Considerations**. Molecules 25 (2020) 3523.
7. Perrigo® - **Lactacyd® Pharma Antiséptico** - Disponível em: <https://www.lactacyd.pt/lactacyd/portfolio/lactacyd-pharma-antiseptico/>
8. Tecnilor® - **Fibro Tecnilor®** - Disponível em: <https://tecnilor.pt/fibro-tecnilor/>
9. INFARMED. IP. - **RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO Aero-OM®** - Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
10. INFARMED. IP. - **RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO Allergodil®** - Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
11. Mylan - **Allergodil®** - Disponível em: <https://www.allergodil.pt/pt-pt/produto/col%C3%ADrio>
12. INFARMED. IP. - **RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO Zyrtec®** - Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>



PARTE 3

MONOGRAFIA

*“ANGIOGÉNESE E METÁSTASES: PONTES
MOLECULARES E TERAPÊUTICAS NO CANCRO”*

Filipa Isabel Brazão Aveiro



Abreviaturas

Ang – Angiopoetina

AS – Splicing alternativo do RNA

C-KIT – Recetor do fator de células estaminais

CAF – Fibroblastos associados ao cancro

CDKs – Cinases dependentes de ciclinas

CSC – Células-tronco cancerígenas

CSF – Fator de estimulação de colónias

CSF-IR – Recetor do fator estimulador de colónias

CTC – Células tumorais solitárias com EMT completa

CTLs – Linfócitos T citotóxicos

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

EC – Célula endotelial

EMT – Transição epitelial-mesenquimal

FGF – Fator de crescimento dos fibroblastos

HGF – Fator de crescimento dos hepatócitos

HIF-1 – Fator induzido por hipoxia 1

IGF – Fator de crescimento semelhante à insulina

IL – Interleucina

MCP-1 – Proteína quimiotática de monócitos 1

MEC ou ECM – Matriz extracelular

miRNA – microRNA

MMP – Metaloproteinases da matriz

mRNA – RNA mensageiro

NK – Células natural killer

OMS – Organização Mundial de saúde

PDGF – Fator de crescimento derivado das plaquetas

PECAM-1 – Molécula de adesão de células endoteliais plaquetárias

PGF – Fator de crescimento da placenta

Rb – Retinoblastoma

RNA – Ácido ribonucleico

RNI – Espécies reativas de azoto

ROS – Espécies reativas de oxigénio

siRNA – RNA interferência

TAMs – Macrófagos associados ao tumor

TAMs – Macrófagos associados ao tumor

TASC – Células associadas ao tumor

TGF- β – Fator de crescimento transformador β

TME – Microambiente tumoral

TNF – Fator de necrose tumoral

VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular

VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular

VEGFR – Recetor do fator de crescimento endotelial vascular

Resumo

O cancro é uma das maiores causas de morte a nível mundial. A cura desta doença é difícil e complexa, pois as células cancerígenas têm uma especificidade metabólica que lhes comunica uma grande capacidade de adaptação ao microambiente celular.

As células cancerígenas são, por regra, originadas através da desregulação do ciclo celular. Uma mutação numa molécula reguladora do ciclo celular e a acumulação de mutações no DNA, pode estar na origem das células cancerígenas, que posteriormente multiplicam-se e formam um tumor.

Estas células têm a capacidade de reprogramar mecanismos biológicos de modo a garantir a sua sobrevivência em condições desfavoráveis e favorecer a sua proliferação. Um destes mecanismos de reprogramação metabólica que é utilizado a favor do crescimento das células cancerígenas é a angiogénese.

Como tal, a angiogénese tumoral envolve a formação de novos vasos sanguíneos, de forma a assegurar a sobrevivência do tumor com o constante fornecimento de nutrientes que promovem a sua proliferação. Os diversos mediadores moleculares envolvidos no processo angiogénico são alvos terapêuticos muito eficazes, pois o seu bloqueio leva, potencialmente, à inibição da angiogénese tumoral e à apoptose das células cancerígenas.

Dada a permeabilidade e aberrante formação dos vasos sanguíneos formados através da angiogénese tumoral o processo de metastização é facilitado, pois proporciona às células cancerígenas do tumor uma maior facilidade em atingir a corrente sanguínea. A proliferação de células cancerígenas para outros locais do organismo origina a formação de metástases, aumentando assim a resistência à terapêutica.

Nesta monografia far-se-á uma revisão dos principais mecanismos moleculares envolvidos na patofisiologia da angiogénese tumoral para, no final, se discutirem os principais alvos e terapias usadas nesta doença, salientando as novas estratégias terapêuticas mais promissoras.

Palavras-chave: cancro, células cancerígenas, ciclo celular, tumor, metástases, angiogénese tumoral, mediadores moleculares, terapêutica, metastização.

Abstract

Cancer is one of the biggest causes of death worldwide, and curing this disease is very difficult and complex, as cancer cells have a high metabolic specificity and a great ability to adapt to the cellular microenvironment.

Cancer cells are formed through dysregulation and failure of cell cycle control. A mutation in a cell cycle regulator, and an accumulation of the DNA mutations within the cell, may be at the origin of cancer cells, which later multiply and form a tumor.

These cells can reprogram biological mechanisms to ensure their survival under unfavorable conditions and favor their proliferation. One of the mechanisms of metabolic reprogramming used in favor of the growth of cancer cells is angiogenesis.

As such, tumor angiogenesis involves the formation of new blood vessels, in order to guarantee the survival of the tumor with the constant supply of nutrients that promote its proliferation. The various molecular mediators involved in the angiogenic process are very effective therapeutic targets, as their blockage leads to inhibition of tumor angiogenesis and apoptosis of cancer cells.

Due to the fragility of blood vessels formed through tumor angiogenesis, the metastasis process is facilitated, as cancer cells have a greater ease in crossing into the bloodstream. The proliferation of cancer cells to other parts of the body leads to the formation of metastases, thus increasing resistance to medication.

Here I'll firstly review the major molecular mechanisms involved in the pathophysiology of angiogenesis and then will address therapeutic targets with an emphasis in novel and promising therapeutic strategies.

Keywords: cancer, cancer cells, cell cycle, tumor, metastases, tumor angiogenesis, molecular mediators, medication, metastasis.

Introdução

O cancro é uma doença que pode ter origem em qualquer órgão ou tecido do corpo. Surge quando células com potencial cancerígeno crescem descontroladamente, ultrapassam os seus limites habituais e invadem partes adjacentes do corpo espalhando-se para os outros órgãos. Este último processo é denominado de metastização, sendo uma das maiores causas de morte por cancro¹.

Relativamente aos fatores de risco, salientam-se o tabagismo, o alcoolismo, uma alimentação inadequada, o sedentarismo, a poluição atmosférica, assim como algumas infeções virais e bacterianas².

Com a evolução das tecnologias, com o aumento do rastreio, do diagnóstico precoce e do surgimento de novas terapêuticas, prevê-se uma diminuição gradual da mortalidade no cancro³.

Com o surgimento de células cancerígenas, aumentam as necessidades nutricionais no local, logo para compensar esta situação ocorre um processo denominado de angiogénese, que garante a sobrevivência destas células e promove a sua proliferação.

A angiogénese representa uma etapa importante na evolução do tumor e na formação de metástases. Posto isto, verifica-se que as terapêuticas anti-angiogénicas revelam elevada eficácia na diminuição e eliminação do tumor, prevenindo a metastização.

Um dos problemas demonstrados com o uso das terapêuticas anti-angiogénicas atualmente comercializadas é a manifestação de alguma toxicidade, o que provoca alguns efeitos secundários indesejados, daí existir uma procura elevada por terapêuticas inovadoras, com eficácia equivalente às atualmente comercializadas, mas que apresentem uma menor toxicidade.

I. Ciclo Celular

O ciclo celular consiste na divisão celular necessária para reparar e regenerar tecidos e células, sendo um processo utilizado por todos os organismos multicelulares. A divisão celular é uma sequência ordenada de eventos que descreve as etapas da vida de uma célula, desde a divisão de uma única célula-mãe até à produção de duas novas células-filhas. É um processo regulado de uma forma meticulosa e falhas ocasionais na sua regulação pode ter consequências fatais⁴.

Na divisão celular as células passam por uma fase de crescimento, replicação de DNA e divisão, cronometradas e reguladas com precisão para produzir duas células idênticas. O ciclo celular é constituído por duas fases principais, nomeadamente a interfase e a fase mitótica, tal como representado na Figura 1. Na interfase a célula aumenta de tamanho e replica o seu DNA e é constituída por três etapas denominadas de G₁, S e G₂ (Figura 1)⁴.

Durante a fase mitótica a replicação prévia do DNA e a separação do conteúdo citoplasmático culmina na divisão celular. Esta fase engloba duas etapas principais a primeira é a cariocinese ou divisão nuclear, e a segunda é a citocinese (Figura 1). A cariocinese também conhecida por mitose, está dividida em 5 fases, a prófase, a prómetáfase, a metáfase, a anáfase e a telófase, que resultam na divisão do núcleo celular⁴.

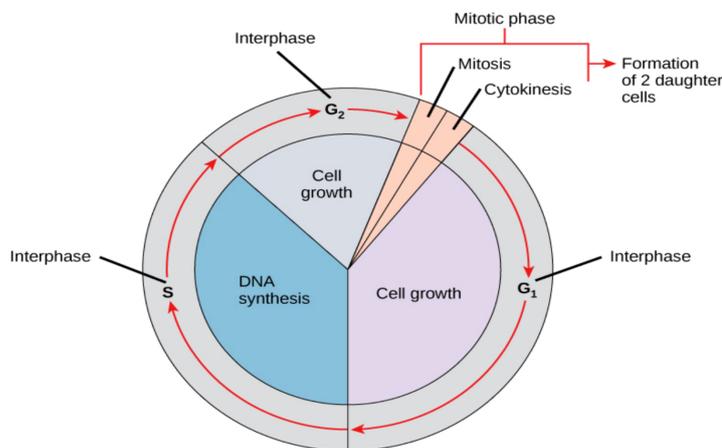


Figura 1 – Ciclo Celular representando a interfase que engloba a síntese do DNA e o crescimento celular e a fase mitótica que corresponde à divisão celular⁴.

I.1. Ciclo celular e a sua importância na origem do Cancro

As células cancerígenas têm origem na desregulação do ciclo celular. O cancro caracteriza-se por um mecanismo comum, nomeadamente o crescimento celular descontrolado⁴.

Um dos mecanismos potencialmente deletérios implica a ocorrência de alterações na sequência dos nucleótidos do DNA dentro de uma porção codificadora de gene durante a replicação do DNA na fase S. Se as alterações não forem corrigidas darão origem a uma mutação genética que poderá formar uma proteína disfuncional. Não sendo esta reparada, pode ocorrer a formação de uma célula cancerígena⁴.

Como consequência, o ritmo celular acelera à medida que a eficácia dos mecanismos de controlo diminuem, originando um crescimento descontrolado de células mutantes que superam as células normais na área, formando um tumor⁴.

É importante notar, a este respeito, que o ciclo celular possui pontos de controlo importantes na deteção e reparação das mutações ocorridas durante este processo. Estes reguladores podem ser positivos ou negativos. Para que a célula passe por todos os pontos de verificação, todos os reguladores positivos devem estar ativos, e todos os reguladores negativos devem estar inativos⁴.

1.1.1. Oncogenes

Um oncogene é o resultado de uma mutação num proto-oncogenes, que é o nome atribuído aos genes que codificam os reguladores positivos do ciclo celular⁴.

A família das cinases dependentes da ciclina (CDK) de serina/treonina cinase é um importante conjunto de proteínas que regula a progressão de cada etapa do ciclo celular, sendo um potencial alvo de desregulação no cancro, o que levou ao desenvolvimento de vários inibidores de pequenas moléculas de CDK como potenciais agentes terapêuticos. Sem uma concentração específica de complexos ciclina/CDK totalmente ativados, o ciclo celular não pode progredir^{4,5}.

O oncogene, quando alterado, leva a um aumento da taxa de progressão do ciclo celular, por exemplo, se uma mutação permitir que a cinase dependente de ciclina (CDK) seja ativada sem estar associada à ciclina, leva o ciclo celular a continuar a sua atividade, sem passar pelos pontos de controlo e, se essa célula for portadora de uma mutação no DNA, pode dar origem a uma célula cancerígena⁴.

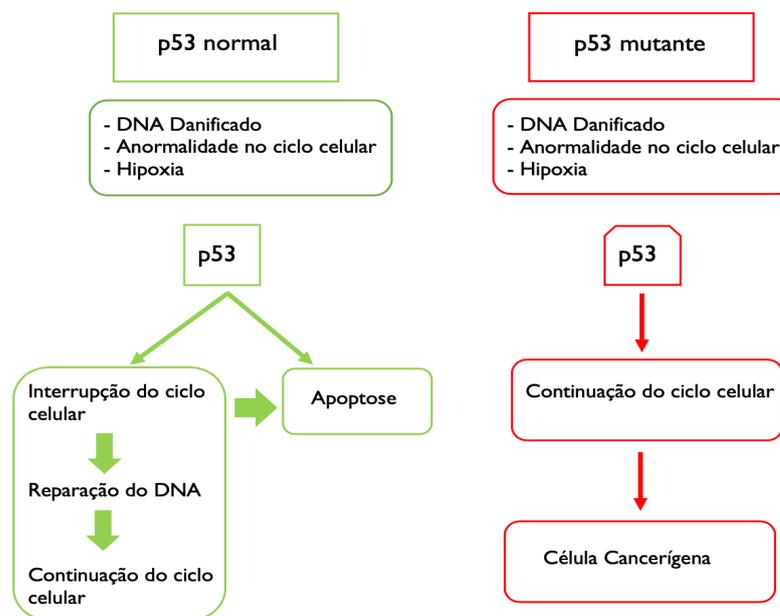
1.1.2. Genes supressores de tumores

Os genes supressores de tumores são segmentos de DNA que codificam proteínas reguladoras negativas, como as Rb, p53 e p21, em que o principal objetivo é interromper o ciclo celular se for detetado algum problema. Se ocorrer uma mutação num destes reguladores, este pode não ter capacidade de interromper o ciclo celular⁴.

Ao analisar tumores foram identificadas mutações nos genes p53, que desempenham um papel importante no ponto de controlo G1. Após a sua descoberta, o p53 foi apelidado de “guardião do genoma” devido ao seu papel crítico na manutenção da funcionalidade do genoma. A mutação na p53 pode não detetar erros presentes no genoma do DNA, perdendo a capacidade de sinalizar enzimas de reparação do DNA e de desencadear a apoptose (Esquema 1)⁴.

A produção de p21 é desencadeada pelo aumento dos níveis de p53. A p21 liga-se aos complexos CDK/ciclina, inibindo a sua atividade e impedindo a progressão do ciclo celular. A p53 ao sofrer uma mutação perde a capacidade de desencadear a produção de p21, logo não há bloqueio na ativação da CDK e a célula prossegue o ciclo celular⁴.

A origem de uma mutação na p53 pode estar associada a vários fatores como o envelhecimento do organismo humano, o que causa a perda da capacidade regenerativa do organismo, ou a genética, como por exemplo a mutação do gene BRCA que pode causar cancro da mama e dos ovários nas mulheres que o possuem^{4,6,7}.



Esquema 1 – O papel da proteína p53 baseia-se essencialmente na reparação do DNA e no fornecimento de oxigénio à célula, com a mutação da p53 essas condições não são obtidas ocorrendo a formação de uma célula cancerígena⁴.

As proteínas do retinoblastoma (Rb) exercem a sua função nas proteínas reguladoras positivas, principalmente na monitorização do tamanho da célula. O regulador negativo retinoblastoma (Rb), também pode sofrer uma mutação originando um cancro raro ocular na retina^{4,8}.

A infecção por um vírus transformador de DNA também é uma forma comum para formação de um tumor, visto que as proteínas codificadoras deste vírus ligam-se às proteínas celulares, podendo bloquear as funções reguladoras de Rb e p53, estimulando assim a proliferação celular anormal⁹.

2. Os mecanismos que sustentam a Angiogénese tumoral e a formação de Metástases

A proliferação e a progressão do cancro envolve a reprogramação metabólica de forma a que as células mantenham a viabilidade, o qual é suportado por um elevado consumo de nutrientes e energia. Os reguladores do ciclo celular são um dos responsáveis pelo controlo dos processos metabólicos, como as vias de oxidação da glicose, da insulina e a síntese de lípidos¹⁰.

As células cancerígenas possuem vários processos para garantir a sua sobrevivência e proliferação em condições desfavoráveis, como a capacidade de reprogramação do organismo, a hipóxia, a privação de nutrientes e o stress oxidativo. Também contêm reservas de metabolitos que podem ser convertidas prontamente em glicose e glutamina, denominados de reservatórios metabólicos¹¹.

A hipóxia das células tumorais é uma característica comum em tumores malignos, a supressão de oxigénio pode induzir mecanismos como o splicing alternativo do mRNA e a angiogénese tumoral que favorecem o crescimento tumoral descontrolado.

A resposta inflamatória provocada pelas células tumorais, recruta para o local do tumor diversas células do sistema imunitário que são utilizadas a favor do crescimento tumoral, promovendo a angiogénese tumoral que posteriormente estimula a formação de metástases.

2.1. Splicing alternativo (AS) do pré-mRNA e a hipóxia no cancro

O splicing alternativo do mRNA potencia a produção de diversos RNA e proteínas. No tumor o AS do pré-mRNA desempenha um papel crítico na patogénese do cancro, pois produz várias isoformas que diversificam as expressões das proteínas utilizadas pelos sistemas de reprogramação metabólica, o que potencia a progressão do mesmo¹².

O AS do pré-mRNA induzido por hipóxia é essencial para a adaptação do microambiente na célula tumoral, este tem a capacidade de regular o metabolismo da glicose,

da glutamina e dos ácidos gordos. A hipóxia no tumor também desencadeia a angiogénese tumoral, o que promove a metastização¹².

2.2. Imunidade e Inflamação no cancro e o seu papel na Angiogénese tumoral

As respostas inflamatórias desempenham papéis decisivos no desenvolvimento do tumor, como por exemplo, na iniciação, na conversão maligna, na invasão e na formação de metástases. A inflamação afeta também a vigilância imunológica e a resposta à terapêutica¹³.

Existem vários tipos de inflamação que diferem na causa, no mecanismo, no resultado e na intensidade. Estes promovem a deslocação de células do sistema imunitário inato e adaptativo para o microambiente tumoral¹³.

As células cancerígenas comunicam, entre outros mecanismos, por meio de citocinas e quimiocinas que agem de forma autócrina (o sinalizador é um mensageiro químico produzido pela célula) e parácrina (o sinalizador é uma hormona produzida pela célula que age sobre as células vizinhas) para controlar e moldar o crescimento tumoral¹³.

As células do sistema imunitário presentes com frequência no microambiente tumoral são os macrófagos associados ao tumor (TAMs) e as células T. Os TAMs promovem principalmente o crescimento tumoral e podem ser necessários para a angiogénese, a invasão e a formação de metástases. O elevado conteúdo de TAMs está normalmente relacionado com um mau prognóstico. As células T podem exercer efeitos supressores ou promotores no tumor, dependendo da forma como forem determinadas as suas funções efetoras¹³.

O microambiente inflamatório pode aumentar as taxas de mutação e a proliferação das células cancerígenas. Em parte, este fenómeno resulta do facto de as células inflamatórias produzirem espécies reativas de oxigénio (ROS) e de azoto (RNI), capazes de induzir danos no DNA e instabilidade no genoma¹³.

À medida que o tumor aumenta de volume e que as células se dividem mais rapidamente que a formação de novos vasos para as nutrir, um maior número de células fica privada de oxigénio, gerando-se uma situação de hipóxia. Deste modo, as células respondem à hipóxia ativando o fator induzido pela hipóxia (HIF) o qual induz uma resposta adaptativa permitindo o crescimento celular. Esta resposta envolve o aumento da expressão de genes envolvidos na glicólise e na angiogénese. Em suma, o crescimento de grandes tumores requer um aumento no fornecimento de sangue intra-tumoral, tal é desencadeado pela hipóxia tumoral, que promove a angiogénese e aumenta a probabilidade de ocorrer metástases¹³.

Além da hipóxia a angiogénese tumoral depende do recrutamento dos TAMs, que detetam sinais hipóxicos e, por sua vez, produzem quimiocinas e fatores pró-angiogénicos. O recrutamento dos percussores dos TAM depende de mediadores angiogénicos, como a angiopoetina 2 e o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)¹³.

Tabela I – Representação das funções de diferentes células do sistema imunitário em relação ao tumor, estas funções podem favorecer o crescimento tumoral como é o caso das células pró-tumorais, ou impedir a evolução tumoral como é o caso das células anti-tumorais¹³.

Tipos de Células	Anti-tumoral	Pró-tumor
Macrófagos, células dendríticas, células supressoras derivadas de mieloides	Apresentação do antígeno; produção de citocinas (IL-12 e tipo I IFN)	Imunossupressão; produção de citocinas, quimiocinas, proteases, fatores de crescimento e fatores angiogénicos
Mastócitos	_____	Produção de citocinas
Células B	_____	Produção de citocinas e anticorpos; ativação dos mastócitos; imunossupressão
Células T CD8⁺	Lise direta de células cancerígenas; produção citocinas citotóxicas	_____
Células Th2 CD4⁺	_____	Educação dos macrófagos; produção de citocinas; ativação das células B
Células Th1 CD4⁺	Ajuda os linfócitos T citotóxicos (CTLs) na rejeição do tumor; produção de citocinas	Produção de citocinas
Células Th17 CD4⁺	Ativação dos CTLs	Produção de citocinas
Células Treguladoras CD4⁺	Supressão da inflamação	Imunossupressão; produção de citocinas
Células Natural Killer (NK)	Citotoxicidade direta contra as células cancerígenas; produção de citocinas citotóxicas	_____
Células T Natural Killer	Citotoxicidade direta contra as células cancerígenas; produção de citocinas citotóxicas	_____
Neutrófilos	Citotoxicidade direta; regulação da resposta das CTL	Produção de citocinas, proteases e espécies reativas de oxigénio (ROS)

2.3. Plasticidade da invasão de células cancerígenas e a sua importância nas metástases

A migração e invasão das células cancerígenas são fatores importantes no desenvolvimento de metástases. As células cancerígenas podem migrar através de vários mecanismos alternativos, como por exemplo, a migração de células ameboides (células do tecido conjuntivo que não estão fixas, como por exemplo, os mastócitos e os macrófagos), a migração de células mesenquimais e a migração celular coletiva. Estas diversas estratégias de movimento, exibem características específicas e distintas nas junções célula-célula, no citoesqueleto de actina, na adesão à matriz e na atividade das proteases¹⁴.

Durante a progressão tumoral, as células passam por microambientes complexos e adaptam as suas estratégias de migração através de transições mesenquimais-ameboides reversíveis e transições individuais-coletivas. Esta plasticidade na mobilidade das células cancerígenas permite a sua disseminação e dificulta a eficiência dos tratamentos contra as metástases¹⁴.

As células tumorais necessitam de adquirir fenótipos malignos para que possam se desprender da massa tumoral primária. As células passam através da membrana basal, penetram a matriz extracelular (MEC) e deslocam-se para a circulação sanguínea¹⁴.

As células mesenquimais exibem uma morfologia alongada o que permite o seu avanço, gerando uma força de tração através da contratilidade do citoesqueleto e de adesão à transição epitelial-mesenquimal (EMT) mediada pela integrina (Figura 2). A degradação da MEC depende da proteólise que é necessária para que as células mesenquimais gerem caminhos, de forma a permitir a sua migração¹⁴.

As células ameboides têm morfologia arredondada e deformável, conseguem comprimir-se através de espaços estreitos e dos poros da MEC o que torna a sua migração independente da degradação da MEC através das proteólises. Durante este movimento, as células exibem saliências semelhantes a bolhas impulsionadas pela contratilidade da actomiosina e mantêm a adesão celular fraca à MEC, resultando em movimentos de alta velocidade (Figura 2)¹⁴.

A migração celular coletiva constitui um padrão de movimento de múltiplas células que retêm conexões célula-célula e migram coordenadamente (Figura 2). Este tipo de movimento depende da dinâmica da actina, da adesão à MEC com base na integrina e na clivagem proteolítica da MEC. Os grupos coesivos migratórios compreendem células tumorais heterogêneas que mantêm uma polaridade em ambos os polos e cooperam de forma hierárquica¹⁴.

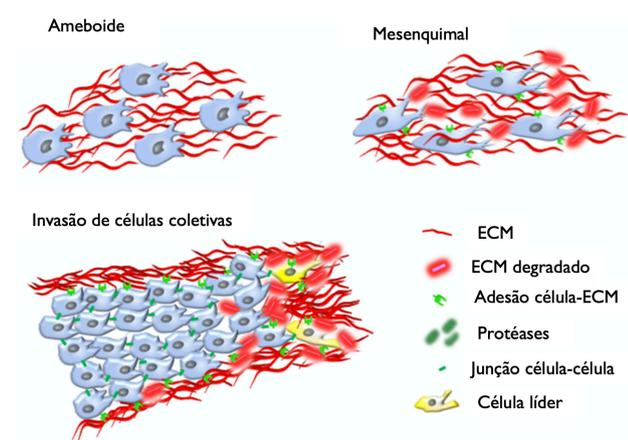


Figura 2 – Mecanismos de migração das células cancerígenas, demonstrando a deslocação das células ameboides, mesenquimais e de células coletivas na matriz extracelular¹⁴.

3. Metastização

A formação de metástases, processo denominado de metastização, é uma das causas mais comuns de morte por cancro, estas provocam a disseminação da doença para outros órgãos, resistem aos tratamentos convencionais e acabam por causar a sua falência¹⁵.

Os tumores sólidos são altamente heterogêneos, existem diversos mecanismos que contribuem para esta heterogeneidade. Os três mecanismos predominantes são, a evolução clonal, a organização hierárquica e a influência do microambiente¹⁶.

A evolução clonal prevê que as células tumorais adquiram novas modificações genéticas ou epigenéticas à medida que o tumor cresce, algumas conferem vantagem proliferativa e de sobrevivência. Cada uma das células pode formar sub- clones que contribuem para a heterogeneidade do tumor¹⁶.

A organização hierárquica corresponde a uma pequena subpopulação de células que retém pluripotência, e dá origem a tecidos heterogêneos e diferenciados. Nos tumores esta subpopulação é denominada de células-tronco cancerígenas (CSC)¹⁶.

As propriedades das CSC podem incluir a autorrenovação das suas células, a capacidade de iniciar o crescimento de tumores, com a consequência de ocorrer a disseminação de metástases e ainda, a capacidade de gerar uma célula descendente mais diferenciada, mas incapaz de iniciar o tumor¹⁶.

O microambiente influencia as características das células cancerígenas, pois provoca alterações celulares que modificam a sua forma de agir, promovendo a sua deslocação para outros locais distantes do tumor inicial.

3.1. Transição Epitelial-Mesenquimal

A colônia de células cancerígenas encontra-se inicialmente confinada ao epitélio, separada do estroma pela membrana basal epitelial, quando estas células adquirem características invasoras, passam a ter a capacidade de penetrar a membrana basal e estabelecer uma relação física com o estroma (Figura 3)¹⁶.

O microambiente é responsável por conferir estas características às células, através de alterações fenotípicas. As células epiteliais adotam um estado mesenquimal, conhecido como a transição epitelial-mesenquimal (EMT), adquirindo várias alterações como, a perda da

polaridade apico-basal e os complexos de adesão célula-célula, assim como a adoção de um comportamento migratório e invasivo¹⁶.

A EMT pode ser completa, o que significa que as células perdem as características epiteliais e expressam exclusivamente características mesenquimais, ou pode ser parcial, expressando simultaneamente características epiteliais e mesenquimais. Esta transição é um processo reversível¹⁶.

3.2. Interação com o estroma

Após atravessarem a membrana basal as células tumorais podem interagir diretamente com o estroma. Elas têm a capacidade de recrutar células mieloides derivadas da medula óssea, mobilizar células-tronco mesenquimais e ativar células mesenquimais residentes, podendo ainda, recrutar macrófagos que passam a estar associados ao tumor (TAMs) (Figura 3)¹⁶.

As células tumorais aproveitam as células mesenquimais residentes e os TAMs para libertarem fatores angiogênicos, enzimas proteolíticas e proteínas da EMT, desencadeando a angiogênese, a linfangiogênese e a remodelação tecidual, o que promove a progressão do tumor¹⁶.

3.3. Circulação de células tumorais

As células tumorais solitárias com a transição epitelial-mesenquimal completa (CTC) podem formar aglomerados ou circular como células individuais (Figura 3). Os aglomerados são mais eficientes na formação de metástases, pois apresentam uma proteção contra as células NK¹⁶.

As CTCs podem transitar entre estados pluripotentes e mais diferenciados conforme os estímulos. Os aglomerados de CTC podem interagir com plaquetas, leucócitos e neutrófilos, garantindo assim a sua sobrevivência¹⁶.

3.4. Extravasamento

O extravasamento de células tumorais é importante para a formação de colônias secundárias e pode ocorrer de duas formas, através da expressão de recetores de adesão ao endotélio que reconhecem ligantes nas células endoteliais ou podem romper os vasos capilares para permitir a passagem (Figura 3)¹⁶.

3.5. Colonização e evolução das metástases

A formação das colônias é a etapa final na formação de um tumor maligno e depende da capacidade das células cancerígenas de se adaptarem ao novo microambiente. Diferentes tipos de tumor têm propensão a formar metástases em diferentes órgãos. Os órgãos têm a capacidade de favorecer condições de sobrevivência às células cancerígenas e de formarem colônias que são denominadas de nichos pré-metastáticos¹⁶.

Por fim, as células tumorais das metástases podem reentrar na circulação sanguínea e formar novas colônias noutros órgãos, aumentando assim a resistência à terapêutica (Figura 3) ¹⁶.

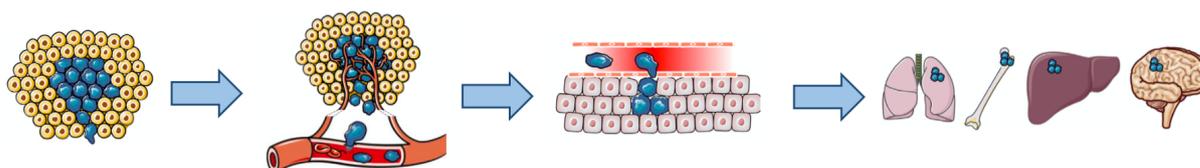


Figura 3 – Formação e evolução das metástases, representando a transição Epitelial-Mesenquimal, a interação das células tumorais com o estroma, a circulação sanguínea destas células, o extravasamento dos vasos capilares para os tecidos adjacentes e por fim a formação de colônias noutros órgãos¹⁷.

3.6. Influência do microambiente nas metástases

O microambiente tumoral (TME) regula as funções essenciais de sobrevivência e progressão do tumor. As interações entre os componentes celulares e as estruturas do TME, fazem com que as células cancerígenas se tornem invasivas e se disseminem para locais distantes do tumor primário¹⁸.

No microambiente tumoral existem os macrófagos do tipo M2 associados ao tumor que exercem funções imunossupressoras e promotores do crescimento. Existem também as células mesenquimais que produzem exossomas, promovendo a capacidade migratória das células cancerígenas. Os fibroblastos promovem o cancro através da reorganização da matriz circundante formando caminhos de orientação e de migração para as células cancerígenas. A MEC exerce papéis determinantes na progressão da doença e na regulação das respostas terapêuticas¹⁸.

A CD44 é uma glicoproteína transmembranar expressa em linfócitos e macrófagos, esta proteína está sujeita a splicing alternativo. A expressão de algumas variantes de splicing de CD44 estão ligadas à disseminação de diversas células malignas e consequente progressão do tumor¹⁹.

O microRNA (miRNA) são moléculas de RNA capazes de regular a expressão genética. O efeito do miRNA é principalmente inibitório, que ao ligar-se ao mRNA provoca a degradação do mRNA e a inibição da sua tradução¹⁹.

A expressão de miRNA é desregulada no cancro através de um mecanismo epigenético e como consequência ajusta a expressão do mRNA no gene alvo, resultando na regulação negativa de genes específicos e na progressão do tumor²⁰.

4. Angiogénese

A angiogénese é um processo essencial no crescimento tumoral que teve um grande impacto na descoberta de novas terapêuticas para o cancro, pois a sua sobrevivência e proliferação depende da angiogénese²¹.

O termo angiogénese significa a expansão de uma rede vascular, através da ramificação de novos vasos sanguíneos a partir dos vasos existentes. É um processo fisiológico complexo que surge através do estímulo de vários fatores pró-angiogénicos, como a molécula-chave o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)²¹.

De modo resumido, a angiogénese é iniciada com o deslocamento de células murais e com a proteólise local da parede do vaso, seguindo-se da proliferação e migração das células endoteliais, seguidas pelo brotamento e ramificação de novos vasos sanguíneos (Figura 4). A célula endotelial que se apresenta na frente do brotamento é denominada de “célula da ponta”, estas distinguem-se fenotipicamente das células da face lateral que são denominadas de “célula do caule”. Por fim, os novos vasos são maturados e acabam por cobrir as células murais²¹.

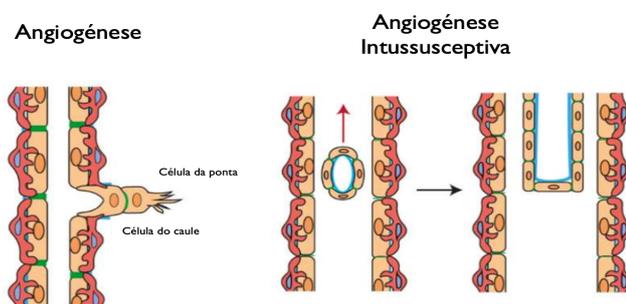


Figura 4 – Processos de formação de novos vasos sanguíneos a partir da angiogénese, em que ocorre o brotamento de células endoteliais e a divisão de vasos pré-existentes, resultando na ramificação de novos vasos sanguíneos²².

Um aspeto importante na angiogénese é que, por regra, os novos vasos têm estruturas aberrantes, isto é, a vasculatura formada no tumor é estruturalmente anormal e mais permeável do que a vasculatura normal (Figura 5). Estas características contribuem para que ocorra vazamento, dilatação e desvio dos vasos sanguíneos, o que provoca um fluxo sanguíneo heterogéneo, a compressão dos vasos e a elevada pressão do fluido intersticial, contribuindo, também, para a formação de metástases²³.

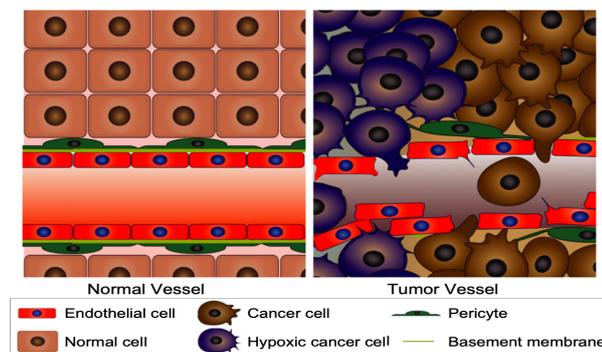


Figura 5 – Comparação entre um vaso sanguíneo normal e um vaso tumoral, em que após a angiogénese o vaso tumoral apresenta uma estrutura danificada, o que facilita a metastização.²⁴

4.1. Mediadores moleculares da angiogénese

O microambiente tumoral (TME) é formado por uma rede complexa e dinâmica de fatores de crescimento, citocinas, quimiocinas, células inflamatórias e enzimas de remodelação da matriz. Tal como referido anteriormente, o crescimento acelerado do tumor leva a um microambiente tumoral hipóxico, hipertensão intersticial e acidose, o que leva à libertação de fatores pró-angiogénicos²⁵⁻²⁷.

Este capítulo pretende sumariar a contribuição dos vários mediadores no processo da angiogénese cuja a atividade e função se encontram esquematizada nas tabelas 3 e 4.

4.1.1. Células Inflamatórias

Os macrófagos são células imunes inatas, diferenciadas de células precursoras monocíticas derivadas da medula óssea. Quando estas atingem os tecidos de destino, são polarizadas em subconjuntos distintos de macrófagos e exibem fenótipos diferentes, dependendo do microambiente do tecido que residem. Os subconjuntos são compostos pelos macrófagos “M1 clássico” e “M2 alternativo”, exibem perfis de expressão específicos de marcadores de superfície celular, de enzimas e de citocinas. Estas células produzem citocinas pró-inflamatórias como a Interleucina (IL)-6, -12, -23 e o fator de necrose tumoral (TNF) α ²⁵.

Os macrófagos M1 e M2 neutralizam a inflamação e desempenham funções reparadoras, contribuindo para a cicatrização de feridas, para a reparação do tecido e para a angiogênese. São encontrados no estroma dos tumores e são referidos como macrófagos associados ao tumor (TAMs), que amadurecem sob a influência do fator I de estimulação de colônias (CSFI), contribuindo para o crescimento tumoral e para as metástases. Os TAMs libertam fatores de crescimento e citocinas inflamatórias que suportam a angiogênese e promovem a sobrevivência, ativação e proliferação das células endoteliais (EC) ^{25,27}.

4.1.2. Fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)

VEGF são os fatores pró-angiogênicos mais críticos que aumentam o crescimento tumoral, tornando-se um alvo importante para a terapêutica anti-angiogênica. A família VEGF consiste em sete elementos, os VEGF-A, -B, -C, -D e -E, e dois fatores de crescimento da placenta (PGFs)-1 e -2²⁵.

Os recetores do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR-1, -2 e -3) são recetores tirosina-quinase transmembranares que, após a ligação dos agonistas podem formar homodímeros e heterodímeros. A migração celular, proliferação, sobrevivência e mobilização de células progenitoras endoteliais da medula óssea para a circulação periférica envolvem VEGFRs. Além disso, esses recetores têm a capacidade de regular a permeabilidade vascular que leva ao edema e ao inchaço dos tecidos ²⁵.

O VEGFR-1 desempenha um papel importante na angiogênese fisiológica, atua como um regulador positivo da angiogênese e da migração de macrófagos e monócitos. Por outro lado, a maioria dos efeitos a jusante na angiogênese é mediada pelo VEGFR-2, outro recetor para VEGF-A, que medeia a permeabilidade microvascular, a proliferação de células endoteliais, a migração, a invasão e a sobrevivência ²⁵.

O VEGFR-2 é considerado o marcador mais precoce para o crescimento de células endoteliais que controla diretamente a angiogênese tumoral. Os mecanismos autócrinos/parácrinos nos processos de sobrevivência e proliferação de células cancerígenas são mediados pela regulação positiva da sinalização VEGF/VEGFR-2²⁵.

Finalmente, o VEGFR-3, liga-se ao VEGF-C e VEGF-D para aumentar a migração e proliferação de células endoteliais²⁵.

4.1.3. Fator de crescimento dos fibroblastos (FGF)

Os FGFs compreendem uma família de nove polipeptídeos, expressos principalmente na hipófise, no cérebro e nos olhos dos mamíferos. O recetor do fator de crescimento de

fibroblastos (FGFR) subdivide-se em quatro recetores tirosina-quinase [(FGFR)-1, -2, -3 e -4] estruturalmente relacionados que medeiam os efeitos biológicos do FGF²⁵.

Os FGFs ácidos e básicos foram caracterizados como fatores angiogénicos que desempenham um papel importante na proliferação, diferenciação e migração celular, tendo um efeito sinérgico com VEGF e com os fatores de crescimento derivados de plaquetas (PDGF) na proliferação de células endoteliais microvasculares²⁵.

4.1.4. Fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF)

Os PDGFs são membros da família dos fatores de crescimento que se ligam aos recetores de tirosina-quinase α e β (PDGFR α e β) e desempenham um papel importante durante o desenvolvimento dos vasos sanguíneos na angiogénese normal e patológica²⁵.

Estes fatores estimulam a proliferação, sobrevivência e migração de fibroblastos para fazer contato com matrizes de colagénio e induzir fenótipos de miofibroblastos nessas células. Os PDGFs estão também envolvidos na ativação da integrina mediada por fatores de crescimento que é crítica para a proliferação celular e sinalização na angiogénese tumoral²⁵.

4.1.5. Fator de crescimento transformador β (TGF- β)

Esta família de fatores de crescimento é composta por três isoformas de TGF- β , ou seja, TGF- β 1-3. São libertados por células endoteliais e pericitos (pericitos são células de origem mesenquimal que envolvem e estabilizam os capilares) de forma inativa e necessitam de clivagem por protéases em ambiente ácido e calor para se ativarem^{25,27}.

O TGF- β modula a proliferação, migração e formação do tubo capilar da EC devido à sua capacidade de recrutar células inflamatórias, que libertam moléculas pró-angiogénicas²⁵.

Os fibroblastos associados ao cancro (CAFs) derivam em grande parte de fibroblastos residentes em tecidos que, sob a influência do fator de crescimento transformador- β (TGF- β), adquirem características de hiperativação funcional, incluindo o aumento da proliferação e da mobilidade. Os CAFs têm um papel fundamental na produção de um estroma reativo, que frequentemente perpetua uma resposta de reparação tecidual promotora de tumores sólidos²⁷.

4.1.6. Angiopoetinas (Angs)

As angiopoietinas representam a família de ligandos extracelulares que se ligam aos recetores Tie presentes na superfície das células endoteliais. As angiopoietinas (Ang)s 1 e 2 ligam-se ao Tie-2 provocando respostas diferentes²⁵.

A angiopoetina 1 (Ang 1), libertada pelo músculo liso vascular e outras células periendoteliais promove o brotamento de células endoteliais²⁵.

A angiopoetina 2 (Ang 2), demonstrou ter um amplo espectro de efeitos na cascata angiogénica, dependendo do tipo de moléculas co-estimuladoras presentes. Durante eventos angiogénicos precoces na presença de estímulos angiogénicos (VEGF e hipóxia) ela causa um aumento dramático no número de células endoteliais ao competir com Ang 1 para se ligar aos recetores Tie-2 e prevenir a autofosforilação do recetor²⁵.

A Ang 2 promove a angiogénese por meio da sobrevivência das células endoteliais, migração, expansão do diâmetro capilar e diferenciação em rede tubular. Na ausência de estimulação angiogénica, a Ang 2 atua com um anti-angiogénico, induzindo a apoptose nas células endoteliais e a regressão vascular²⁵.

4.1.7. Citocinas e Quimiocinas

As citocinas são proteínas libertadas pelo sistema imunitário inato e adaptativo para regular as diferentes funções biológicas na resposta imunitária. As citocinas são estruturalmente semelhantes entre si, no entanto, desempenham funções diferentes conforme a família em que estão integradas²⁵.

A superfamília de quimiocinas possui uma ampla gama de proteínas quimiotáticas de baixo peso molecular, envolvidas na regulação de várias etapas da progressão tumoral e metástase, incluindo a proliferação, a neovascularização, a invasão e a migração de células malignas para órgãos distintos²⁵.

Esta família é dividida em duas grandes categorias, aquelas com motivo “ELR” (ELR+ ou ELR1) são potentes promotores da angiogénese, no entanto, os membros induzidos por interferon que não possuem o motivo “ELR” (ELR- ou ELR2) são potentes inibidores angiogénicos, com exceção do ligante da quimiocina (motivo C-X-C) (CXCL12)²⁵.

O CXCL8 é uma das quimiocinas mais extensivamente estudadas na categoria ELR+, como um potente mediador angiogénico. Estudos mostraram que existem recetores CXCL8

(CXCR1 e CXCR2) localizados na superfície das células epiteliais, o que faz o CXCL8 se ligar às células epiteliais e induzir a proliferação de células endoteliais, inibindo a apoptose²⁵.

O CXCL8 exerce a sua atividade angiogénica pela regulação positiva em células tumorais e endoteliais das enzimas metaloproteínas da matriz, as MMP-2 e as MMP-9, o que leva à degradação da matriz extracelular, que é um dos pré-requisitos para a migração e organização das células endoteliais²⁵.

4.1.8. Fator de necrose tumoral α (TNF- α)

O TNF- α em concentrações mais baixas estimula a cascata da angiogénese, induzindo o fenótipo “Célula da ponta” em células endoteliais através de um mecanismo dependente de NF- κ B. No entanto, o TNF também pode inicialmente atrasar a angiogénese através do bloqueio da sinalização de VEGFR2²⁵.

4.1.9. Proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1)

A MCP-1 desempenha um papel importante na inflamação e na angiogénese, além de controlar o tráfego e a ativação de monócitos/macrófagos através de seu recetor CCR2, a MCP-1 tem a capacidade de atuar diretamente nas células endoteliais de forma a induzir a angiogénese²⁵.

4.1.10. Fator de crescimento dos hepatócitos (HGF) e C-Met

O HGF e o seu recetor c-Met estão envolvidos numa interação comunicativa entre células mesenquimais produtoras de HGF e células-alvo que expressam c-Met. O HGF é um fator de crescimento angiogénico, que combinado com o VEGF tem um efeito aditivo na migração de células endoteliais e no aumento da neovascularização²⁵.

A angiopoetina promove o HGF e induz o recrutamento de células musculares lisas, aumentando a estabilização da angiogénese²⁵.

4.1.11. Metaloproteinases da matriz (MMPs)

As MMPs, são uma família de enzimas que possuem a capacidade de degradar diversos componentes da matriz extracelular (MEC). As MMPs controlam várias fases da cascata angiogénica, incluindo a liberação de fatores pró-angiogénicos sequestrados pela MEC, a liberação de fatores de crescimento e de recetores ligados à MEC, incluindo integrinas e recetores de adesão, e a liberação de inibidores endógenos da angiogénese²⁵.

O MMP-2 e -9 são sintetizados e libertados em grandes quantidades pelas células tumorais de forma parácrina e/ou autócrina. Estas enzimas são conhecidas por desempenhar um papel crítico no “interruptor angiogénico”, aumentando a liberação de VEGF, e alterando assim o equilíbrio para o aumento da angiogénese tumoral²⁵.

Uma forte correlação positiva entre MMP-2, -9 e VEGF existe na maioria dos tumores sólidos, levando à remodelação da MEC, aumentando a proliferação de EC, a migração e o brotamento dos vasos sanguíneos²⁵.

A MMP-9 é necessária para a mudança do equilíbrio angiogénico atingindo a fase pró-angiogénica, enquanto a MMP-2 contribui no crescimento tumoral, a MMP-9 exógena promove o crescimento de células endoteliais aumentando a libertação de VEGF da MEC, recrutando pericitos para os vasos sanguíneos recém-formados²⁵.

Estudos recentes indicam que a IL-8, um fator angiogénico, induz a expressão e atividade de MMP-2 em células de melanoma, aumentando a sua invasão²⁶.

4.1.12. Adipocinas

O tecido adiposo pode promover o crescimento de células cancerígenas, iniciadas através da angiogénese. As adipocinas pró-angiogénicas são libertadas por adipócitos, células inflamatórias infiltrantes e células estromais associadas ao tecido adiposo, podendo atingir as células endoteliais vasculares diretamente ou recrutar células inflamatórias vasculares-moduladoras²⁷.

4.1.13. Fator de crescimento semelhante à insulina (IGF)

O IGF-I promove a angiogénese na regeneração do músculo esquelético através da ativação dos recetores dos VEGF, e da estimulação da migração vascular das células endoteliais²⁸.

4.1.14. Fator I induzido por hipóxia (HIF-1)

Tal como referido anteriormente, a hipoxia que resulta do crescimento rápido do tumor leva à ativação de um fator de translocação nuclear que desempenha um papel regulador central na reprogramação metabólica e adaptação celular à hipoxia. O fator I induzido por hipoxia (HIF-1) é uma proteína heterodimérica regulada pelo oxigénio. O HIF-1 atua como um fator regulador da angiogénese, detetando e respondendo a condições hipóxicas, por estimulação da expressão de fatores de crescimento angiogénico, como o VEGF, a Ang-2, o PGF e o PDGF²⁸, entre muitos outros genes.

4.1.15. Integrinas

As integrinas são uma classe de moléculas de adesão que reconhece ligantes específicos na matriz extracelular, são altamente expressas em vasos sanguíneos recém-formados e desempenham um papel importante nas interações célula-célula e célula-MEC²⁵.

Estão envolvidas na regulação de diversos processos fisiológicos, como a inflamação, a imunidade, a homeostasia, a cicatrização de feridas, a diferenciação tecidual, a regulação do crescimento células e por fim a angiogênese. As integrinas são responsáveis pela supressão da apoptose nas células endoteliais e pela indução de VEGF de forma a que produzam fatores pró-angiogénicos²⁵.

4.1.16. Moléculas de adesão de células endoteliais plaquetárias-I (PECAM-I)

PECAM-I é uma proteína da superfamília de imunoglobulinas, expressa dentro do compartimento vascular em diversas células, incluindo as células endoteliais, as plaquetas, e os macrófagos. Nas células endoteliais, estas moléculas estão presentes nas junções intracelulares de células adjacentes com o objetivo de manter a adesão celular²⁵.

4.1.17. Endostatina

A endostatina é um fragmento proteolítico do colagénio, um fator anti-angiogénico, ou seja, atua como um potente inibidor da angiogênese, interferindo na sinalização VEGF/VEGFR, suprimindo a angiogênese mediada por TNF- α , FGF, levando à inibição da proliferação das células endoteliais e aumento da apoptose²⁵.

4.1.18. Angiostatina

A angiostatina é um fragmento terminal do plasminogénio, que atua como inibidor endógeno da angiogênese, bloqueando várias etapas da cascata angiogénica nas células endoteliais, incluindo a proliferação, migração e diferenciação das estruturas tubulares. Inibe também a migração estimulada por HGF e a proliferação do músculo liso nas células endoteliais²⁵.

Tabela 2 – Funções dos mediadores moleculares pró-angiogénicos, fatores que promovem a angiogénese favorecendo a sua formação ²⁹.

Fator	Função biológica
VEGF (fator de crescimento endotelial vascular)	↑ permeabilidade, ↑ ativadores do plasminogénio, ↑ colagenases intersticiais, ↑ proliferação e migração das EC, e ↓ apoptose EC
FGF (fator de crescimento de fibroblastos)	↑ proliferação e migração das EC, ↑ ativadores do plasminogénio, ↑ integrinas e outras moléculas de adesão
Ang-1 (Angiopoetina 1)	Formação do brotamento vascular e estabilização dos vasos
Ang-2 (Angiopoetina 2)	↑ proliferação e migração das EC, formação do brotamento vascular com a presença de VEGF
PDGF (fatores de crescimento derivados das plaquetas)	Estabilização dos vasos
TGF-β (fator de crescimento transformador β)	Estabilização dos vasos
TNF-α (fator de necrose tumoral α)	Migração EC
CSFs (fatores de estimulação de colónias)	Proliferação e migração das EC
IGF-I (fator de crescimento semelhante á insulina I)	Proliferação EC, ↓ apoptose EC, indução dos VEGF, ↑ ativadores do plasminogénio
HGF (fator de crescimento dos hepatócitos)	Proliferação e migração das EC
PECAM-I (molécula de adesão de células endoteliais plaquetárias)	Agregação das EC, formação do tubo, estabilização do tubo, migração das EC e angiogénese induzida por FGF
Integrinas	Adesão das ECs, ↓ apoptose EC, migração das ECs e angiogénese induzida por FGF

Tabela 3 – Funções dos mediadores moleculares anti-angiogénicos, fatores que inibem a angiogénese impedindo a sua formação ²⁹.

Fator	Função biológica
Angiostatina	↓ proliferação e migração de EC, ↓ formação do tubo vascular, ↑ apoptose nas ECs
Endostatina	↓ proliferação e migração de EC, ↑ apoptose nas ECs
Ang-2 (angiopoetina 2)	Destabilização dos vasos, ↑ apoptose nas ECs
TGF-β (fator de crescimento transformador β)	↓ proliferação e migração de EC, ↓ ativadores do plasminogénio, ↑ apoptose nas ECs
TNF-α (fator de necrose tumoral α)	Inibição da proliferação na EC induzida por FGF e ↑ apoptose nas ECs

4.2. Regulação metabólica da angiogénese tumoral

Do exposto, resulta clara a complexidade envolvida na regulação da angiogénese ao nível molecular. As Figuras 6 e 7 ilustram a contribuição das várias moléculas em relação com o seu impacto estrutural e fisiopatológico.

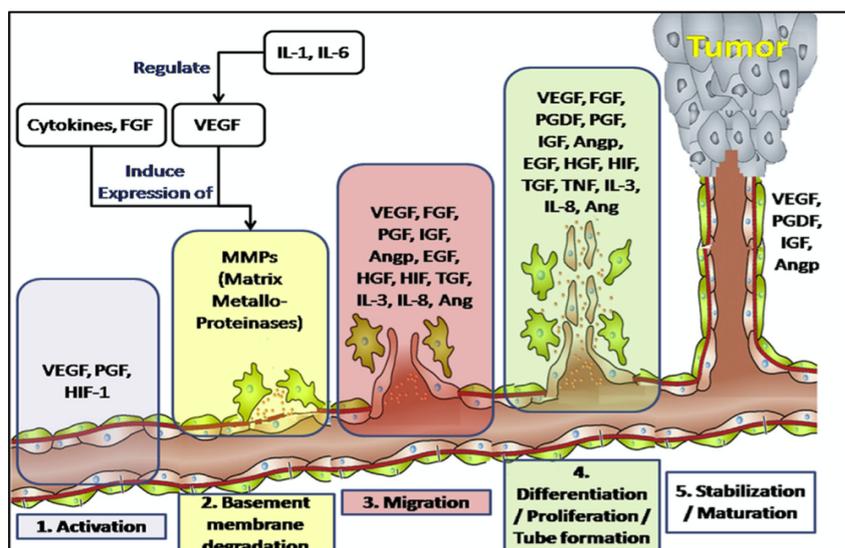


Figura 6 – Processo angiogénico com a descrição dos respetivos mediadores utilizados na ativação, na degradação da matriz extracelular, na migração de células endoteliais, na diferenciação, proliferação, formação do vaso e por fim, na maturação e estabilização do vaso sanguíneo²⁸.

Sob a influência dos fatores derivados do tumor, os adipócitos aumentam a sua atividade lipolítica e libertam ácidos gordos livres que, ao serem internalizados pelas células endoteliais vasculares (ECs) através da proteína 4 de ligação de ácidos gordos (FABP4), aumentam a taxa de β -oxidação nos vasos sanguíneos associados ao tumor (TABVs) para sustentar a angiogénese²⁷.

Os adipócitos ativados pelo cancro libertam adipocinas, uma variedade heterogénea de fatores de crescimento, citocinas e hormonas que promovem a angiogénese tumoral²⁷.

Adipocinas potencialmente relevantes para a angiogénese tumoral incluem, o fator de necrose tumoral (TNF), a interleucina-1 β (IL-1 β) e IL-6, o fator de crescimento de insulina I (IGFI), o fator de crescimento endotelial vascular A (VEGFA), o fator de crescimento de fibroblastos 2 (FGF2), o fator de crescimento de hepatócitos (HGF), as angiopoetinas (ANGPTs), o ligante 2 de quimiocina CC (CCL2) e o fator 2 estimulador de colónias (CSF2)²⁷.

Condições hipóxicas crónicas no microambiente tumoral (TME) promovem a expressão de mediadores pró-angiogénicos induzidos pelo fator induzido por hipóxia (HIF), VEGFA e CXC-quimiocina ligante 12 (CXCL12), que estimulam diretamente a angiogénese tumoral²⁷.

A sinalização oncogénica sustentada nas células cancerígenas está associada à regulação positiva de vários quimioatraentes e ativadores de células mielóides, como o CXCL8 e o VEGFA²⁷.

As células cancerígenas metabolicamente ativas libertam lactato, que é internalizado por células endoteliais e macrófagos associados a tumores (TAMs) através do transportador de monocarboxilato importador de lactato I (MCT1). O lactato estimula a angiogénese tumoral atuando diretamente e indiretamente nas células endoteliais, promovendo a programação de macrófagos associados ao tumor do tipo M2²⁷.

As células endoteliais tumorais respondem à hipóxia e acidose regulando positivamente os mediadores da via glicolítica, como o transportador de glicose I (GLUT1)²⁷.

Finalmente, sob a influência do VEGFA, as células endoteliais dos vasos sanguíneos associados ao tumor (TABVs) produzem várias espécies reativas de oxigénio (ROS) que promovem a proliferação de células endoteliais e a angiogénese sob condições de stress metabólico²⁷.

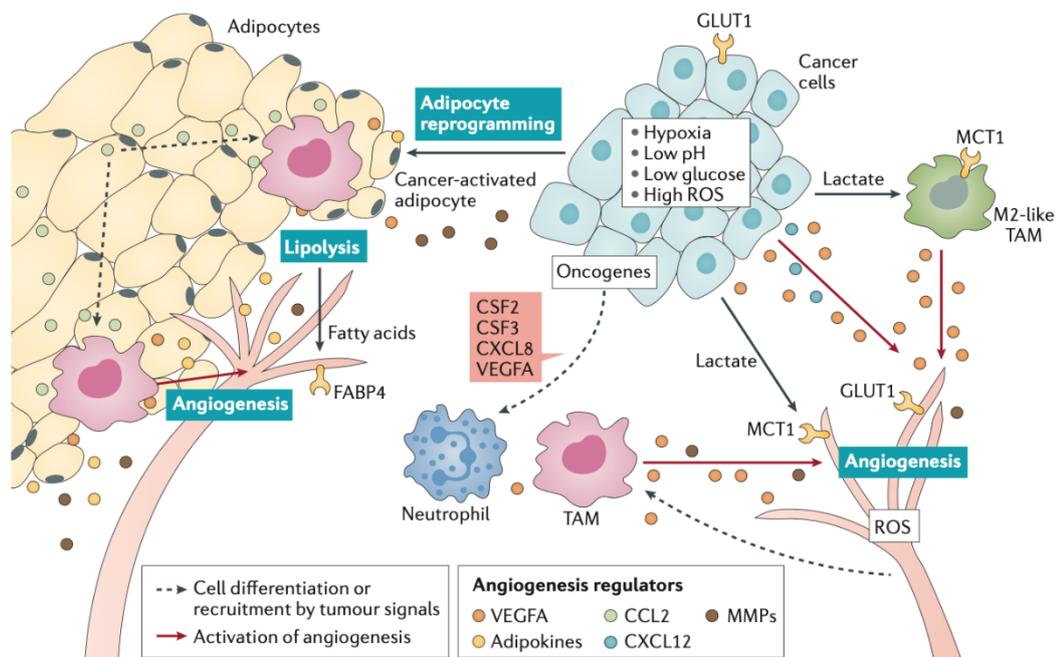


Figura 7 – Regulação metabólica da angiogénese tumoral, representando os diversos mediadores recrutados para o processo angiogénico²⁷.

5. Terapêutica anti-angiogénica

Dado que a angiogénese que ocorre em tumores sólidos resulta de uma reprogramação metabólica que promove a sobrevivência celular, o processo angiogénico torna-se um alvo importante no tratamento do cancro, pois o bloqueio de alguns mediadores moleculares angiogénicos revela ser muito eficaz no tratamento do tumor e na prevenção da formação de metástases³⁰.

A abordagem preferida para interromper a angiogênese é o bloqueio do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), mas o seu uso clínico revelou algumas limitações como efeitos secundários graves, toxicidade e resistência ao tratamento³⁰.

5.1. Medicamentos anti-angiogénicos utilizados atualmente

Atualmente, existem vários medicamentos anti-angiogénicos aprovados para o tratamento de diversos tipos de cancro. Como exemplo temos o Bevacizumab, o Pazopanib, o Sorafenib, o Aflibercept e o Sunitinib³⁰.

5.1.1. Bevacizumab

O Bevacizumab é um anticorpo monoclonal indicado no tratamento de diversos cancros, como o cancro do colón, do reto, do pulmão, da mama, do colo do útero, do cancro renal avançado, do cancro epitelial do ovário, do cancro na trompa de Falópio ou do cancro peritoneal primário e avançado³¹.

Este anticorpo monoclonal liga-se ao fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) inibindo a ligação aos recetores VEGFR-1 e -2 na superfície das células endoteliais. A neutralização da atividade biológica do VEGF regride a vascularização tumoral, inibe a formação de novos vasos, o que provoca a inibição do crescimento tumoral (Figura 8)³¹.

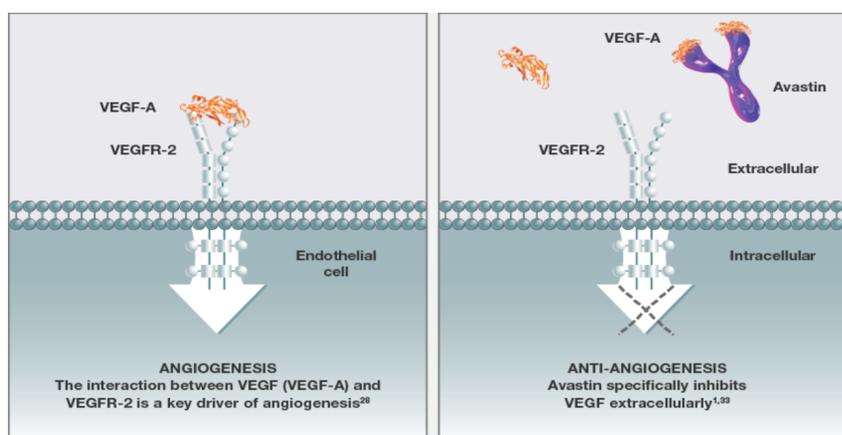


Figura 8 – Mecanismo de ação do Bevacizumab (Avastin), evidenciando a ligação do anticorpo monoclonal ao fator VEGF-A e inibindo a sua ação³².

5.1.2. Pazopanib

O Pazopanib é utilizado no tratamento do carcinoma de células renais e no sarcoma dos tecidos moles. O seu mecanismo de ação consiste na inibição dos recetores das tirosina-quinases como, os recetores do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR), o recetor do fator de células estaminais (c-KIT) e os recetores do fator de crescimento derivado das

plaquetas (PDGFR). Por fim, inibe também a autofosforilação nas células induzida por ligandos destes recetores (Figura 9)³³.

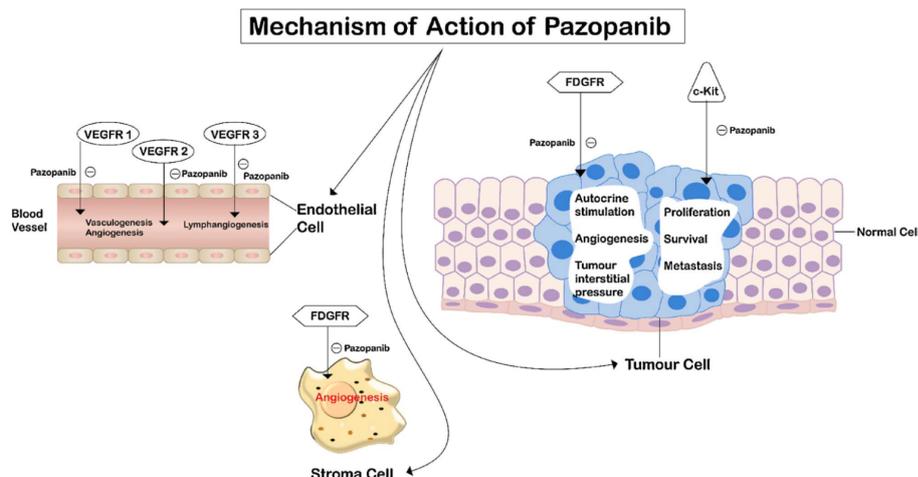


Figura 9 – Mecanismo de ação do Pazopanib, demonstrando a inibição dos recetores tirosina-quinase e a inibição da fosforilação das células induzidas por ligandos tirosina-quinase³⁴.

5.1.3. Sorafenib

O Sorafenib é indicado para o tratamento do carcinoma hepatocelular, do carcinoma de células renais e do carcinoma diferenciado da tiroide. É um inibidor multiquinase que diminui a proliferação das células tumorais através da redução da angiogénese tumoral, tem a capacidade de inibir alvos presentes nas células tumorais e na vasculatura tumoral, como por exemplo os recetores tirosina-quinase VEGFR e PDGFR³⁵.

5.1.4. Aflibercept

O Aflibercept é utilizado no cancro colorretal e da próstata, é uma proteína recombinantes que consiste em porções ligantes de VEGF dos domínios extracelulares dos recetores VEGF-1 e -2. O Aflibercept liga-se e bloqueia a ativação dos recetores de VEGF e a proliferação de células endoteliais, impedindo assim a formação de novos vasos sanguíneos³⁶.

5.1.5. Sunitinib

O Sunitinib está indicado no tratamento do tumor maligno do estroma gastrointestinal, no carcinoma de células renais metastático e nos tumores neuroendócrinos pancreáticos. O Sunitinib inibe múltiplos recetores tirosina-quinase como, os recetores do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGFR), os recetores do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR) e o recetor do fator estimulador de colónias (CSF-IR)³⁷.

5.2. Oportunidades de novas terapêuticas anti-angiogênicas

5.2.1 Terapia Gênica

As terapias gênicas anti-angiogênicas cancerígenas utilizam duas estratégias, o aumento genético e o bloqueio genético. O aumento genético consiste na introdução de genes anti-angiogênicos exógenos nas células-alvo, de forma que, através da sua expressão a angiogênese tumoral seja interrompida. O bloqueio genético resulta na inibição da expressão excessiva de genes pró-angiogênicos nas células endoteliais e noutras células do tecido tumoral³⁸.

A atuação da terapêutica genética pode resumir-se em duas categorias: aumentando a expressão de genes anti-angiogênicos e reduzindo a expressão excessiva de genes pró-angiogênicos (Figura 10)³⁸.

Em comparação com anticorpos monoclonais e anticorpos manipulados, a terapêutica genética apresenta menores efeitos secundários e um menor custo de tratamento³⁸.

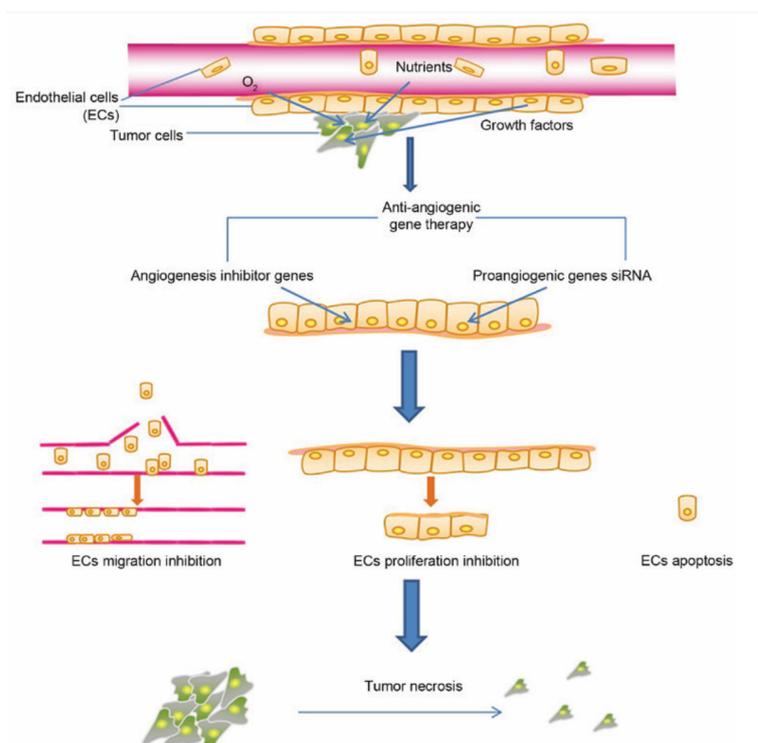


Figura 10 – Mecanismo de ação da terapêutica genética anti-angiogênica, evidenciando a necrose tumoral provocada pela introdução de genes inibidores da angiogênese exógenos na célula-alvo, e pela inibição da expressão excessiva de genes pró-angiogênicos³⁸.

5.2.2. Compostos naturais com propriedades anti-angiogênicas

Desde as sociedades primitivas, as plantas, as ervas e as sementes com propriedades fitoquímicas, eram utilizadas devido aos seus benefícios terapêuticos. Os fitoquímicos têm uma atividade antioxidante nas células, estimulam as enzimas, imitam hormonas e interferem na

replicação do DNA³⁹. No entanto, esta visão dos compostos fenólicos como panaceias é largamente suportada por estudos in vitro utilizando células em cultura. Uma vez que durante a absorção estes compostos são extensamente metabolizados nas células epiteliais e do fígado, não são claros os mecanismos pelos quais exercem ações in vivo. Contudo, dado o seu potencial interesse far-se-á um breve resumo das suas potenciais ações.

Estas moléculas demonstram eficácia na prevenção do cancro, alguns metabolitos secundários das plantas são considerados potenciais candidatos para a inibição da angiogénese patológica³⁹.

Extratos bioativos de plantas e macrofungos demonstram possuir diversos mecanismos de ação com diferentes vias para inibir a angiogénese, nomeadamente inibindo a atividade dos recetores VEGF, o que resulta na inibição da proliferação e migração de células. Também inibem a formação de novos vasos sanguíneos, a formação de capilares e induzem a apoptose de células cancerígenas. Diferentes compostos bioativos podem apresentar atividades distintas a nível molecular³⁹. Tal como referido anteriormente, não se deve perder de vista que a maioria dos resultados que suportam estas conclusões foram obtidos in vitro.

Os compostos fenólicos mostram ter uma alta afinidade para alvos moleculares como, os recetores da membrana, os transportadores das proteínas, os fatores de transcrição ou através da modulação da expressão genética. Estes podem ser utilizados para interferir com o ciclo celular, inibir de VEGF, MMP-2 e MMP-9, inibir a atividades dos recetores PDGF e VEGF e reduzir a expressão de HIF-1³⁹.

Por fim, estudos realizados com compostos alcalóides e terpenóides demonstraram ter eficácia na inibição da angiogénese, por meio da inibição e desregulação dos seus mediadores moleculares, como os VEGF, as MMP-9, o TNF induzido e o FGF³⁹.

5.2.3. Splicing alternativo do RNA (AS) como terapêutica anti-angiogénica

O processo angiogénico no cancro tem alterações específicas de splicing alternativo do RNA. A manipulação do AS na angiogénese torna-se uma potencial abordagem terapêutica de forma a bloquear o crescimento tumoral⁴⁰.

Para modificar o AS na angiogénese do cancro podemos inibir seletivamente isoformas pró-angiogénicas. As isoformas anti-angiogénicas podem ser excessivamente expressas de forma a bloquear a vascularização do tumor⁴⁰.

Em vasos cancerígenos as células endoteliais tumorais expressam várias isoformas de AS que não são expressas em células normais que podem representar potenciais alvos

terapêuticos para a angiogênese. No entanto, uma compreensão mais profunda dos erros do AS que ocorrem durante o desenvolvimento e progressão do cancro, será necessária para a formulação de terapêuticas específicas e eficazes⁴⁰.

Conclusão

A metastização é a forma mais agressiva e letal do cancro, pois a formação de metástases aumenta a resistência à terapêutica. A angiogênese tumoral é um processo que sustenta a viabilidade do tumor, promovendo formação de novos vasos sanguíneos e facilitando metastização. Os mediadores moleculares que promovem a formação de neo-vasos participam numa rede complexa de interações que, em última análise, facilitam a passagem das células cancerígenas para a corrente sanguínea, promovendo assim a anarquia tumoral.

Novas propostas terapêuticas anti-angiogénicas têm surgido, nomeadamente pela inibição dos fatores de crescimento angiogénico. Estas terapêuticas demonstram uma elevada eficácia e menos agressividade que as terapêuticas atuais. A natureza dinâmica e complexa da rede de interações moleculares que promovem a angiogênese está, no entanto, longe de estar completamente esclarecida. Esta noção leva a que, por um lado seja difícil uma terapêutica anti-angiogénica eficaz atuando num único alvo e, por outro lado, estimula à descoberta de substâncias que de modo sinérgico atuem em diversos alvos moleculares (mediadores da angiogênese). Uma camada adicional de complexidade resulta do facto de muitos dos mediadores angiogénicos serem mediadores fisiológicos, e, portanto, a sua inibição poderá ter consequências deletérias. Neste cenário, contudo, a terapêutica angiogénica seletiva a alguns dos mediadores poderá revelar-se de grande utilidade no combate ao cancro.

Referências Bibliográficas

1. World Health Organization - **Cancer** - Disponível em: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1
2. World Health Organization - **Cancer** - Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
3. World Health Organization - **Noncommunicable Disease Surveillance, Monitoring and Reporting** - Disponível em: <https://www.who.int/teams/noncommunicablediseases/surveillance/data/cancer-profiles>
4. CLARK, Mary A.; DOUGLAS, Matthew; CHOI, Jung - **Biology 2e**. OpenStax College 10 (2018) 275–292.
5. COLLINS, Ian; GARRETT, Michelle D. - **Targeting the cell division cycle in cancer: CDK and cell cycle checkpoint kinase inhibitors**. *Current Opinion in Pharmacology* 5 (2005) 366–373.
6. VADDAVALLI, Pavana Lakshmi; SCHUMACHER, Björn - **The p53 network: cellular and systemic DNA damage responses in cancer and aging**. *Trends in Genetics* 38 (2022) 598–612.
7. HU, Kai-Lun; WANG, Siwen; YE, Xiaohang; ZHANG, Dan - **Effects of BRCA gene mutation on female reproductive potential: A systematic review**. *Maturitas* 137 (2020) 11–17.
8. SINGH, Usha; MALIK, Manzoor A.; GOSWAMI, Sandeep; SHUKLA, Swati; KAUR, Jasbir - **Epigenetic regulation of human retinoblastoma**. *Tumor Biology* 37 (2016) 14427–14441.
9. KOEFFLER, Phillip H.; MCCORMICK, Frank; DENNY, Christopher - **Molecular Mechanisms of Cancer**. *Western Journal of Medicine* 155(5) (1991) 505–514.
10. LEAL-ESTEBAN, Lucia C.; FAJAS, Lluís - **Cell cycle regulators in cancer cell metabolism**. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease* 1866 (2020) 165715.
11. ZHANG, Cissy; QUINONES, Addison; LE, Anne - **Metabolic reservoir cycles in cancer**. *Seminars in Cancer Biology* (2022).
12. PENG, Qiu; ZHOU, Yujuan; OYANG, Linda; WU, Nayiyuan; TANG, Yanyan; SU, Min; LUO, Xia; WANG, Ying; SHENG, Xiaowu; MA, Jian; LIAO, Qianjin - **Impacts and**

mechanisms of alternative mRNA splicing in cancer metabolism, immune response, and therapeutics. *Molecular Therapy* 30 (2022) 1018–1035.

13. GRIVENNIKOV, Sergei I.; GRETEN, Florian R.; KARIN, Michael - **Immunity, Inflammation, and Cancer.** *Cell* 140 (2010) 883–899.

14. WU, Jia Shun; JIANG, Jian; CHEN, Bing-jun; WANG, Ke; TANG, Ya-ling; LIANG, Xin-hua - **Plasticity of cancer cell invasion: Patterns and mechanisms.** *Translational Oncology* 14 (2021) 100899.

15. MASSAGUÉ, Joan; BATLLE, Eduard; GOMIS, Roger R. - **Understanding the molecular mechanisms driving metastasis.** *Molecular Oncology* 11 (2017) 3–4.

16. RIGGI, Nicolo; AGUET, Michel; STAMENKOVIC, Ivan - **Cancer Metastasis: A Reappraisal of Its Underlying Mechanisms and Their Relevance to Treatment.** *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* 13 (2017) 117–140.

17. COUSSY, Florence; BONIN, Florian; AZORIN, Paula; TARIQ, Zakia; DRIOUCH, Keltouma - **Biology of metastases and molecular mechanisms of their formation.** *Bulletin du Cancer* 106 (2019) 24–36.

18. NEOPHYTOU, Christiana M.; PANAGI, Myrofora; STYLIANOPOULOS, Triantafyllos; PAPAGEORGIS, Panagiotis - **The Role of Tumor Microenvironment in Cancer Metastasis: Molecular Mechanisms and Therapeutic Opportunities.** *Cancers* 13 (2021) 2053.

19. WEBER, Georg F. - **Molecular mechanisms of metastasis.** *Cancer Letters* 270 (2008) 181–190.

20. HOON, Dave S. B.; FERRIS Robert; TANAKA, Ryo; CHONG, Kelly K.; ALIX-PANABIÈRES, Catherine; PANTEL, Klaus - **Molecular mechanisms of metastasis.** *Journal of Surgical Oncology* 103 (2011) 508–517.

21. ICHIHARA, Eiki; KIURA, Katsuyuki; TANIMOTO, Mitsune - **Targeting Angiogenesis in Cancer Therapy.** *Acta Medica Okayama* 65 (2011) 353–362.

22. LUGANO, Roberta; RAMACHANDRAN, Mohanraj; DIMBERG, Anna - **Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities.** *Cellular and Molecular Life Sciences* 77 (2020) 1745–1770.

23. ZANOTELLI, Matthew; REINHART-KING, Cynthia - **Mechanical Forces in Tumor Angiogenesis**. *Biomechanics in Oncology. Advances in Experimental Medicine and Biology* 1092 (2018) 91–112.
24. MAES, Hannelore; OLMEDA, David; SOENGAS, María S.; AGOSTINIS, Patrizia - **Vesicular trafficking mechanisms in endothelial cells as modulators of the tumor vasculature and targets of antiangiogenic therapies**. *FEBS Journal* 283 (2015) 25–38.
25. HAMID S. Y., Ashwaq; ASIF, Muhammad; PETERSEN, Sven H.; SUBRAMANIAM, Ayappa V.; KONO, Koji; MAJID, Amin M. S. A.; OON; Chern E. - **Angiogenesis: Managing the Culprits behind Tumorigenesis and Metastasis**. *Medicina* 54 (2018) 8.
26. QUINTERO-FABIÁN, Saray; ARREOLA, Rodrigo; BECERRIL-VILLANUEVA, Enrique; TORRES-ROMERO, Julio C.; ARANA-ARGÁEZ, Victor; LARA-RIEGOS, Julio; RAMÍREZ-CAMACHO, Mario A.; ALVAREZ-SÁNCHEZ, María E. - **Role of Matrix Metalloproteinases in Angiogenesis and Cancer**. *Frontiers in Oncology* 9 (2019) 1370.
27. PALMA, Michele DE; BIZIATO, Daniela; PETROVA, Tatiana V. - **Microenvironmental regulation of tumour angiogenesis**. *Nature Reviews Cancer* 17 (2017) 457–474.
28. GACCHE, Rajesh N.; MESHRAM, Rohan J. - **Targeting tumor micro-environment for design and development of novel anti-angiogenic agents arresting tumor growth**. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 113 (2013) 333–354.
29. MAURIZ, José L.; LINARES, Pedro; GONZÁLEZ, Paquita; CULEBRAS, Jesús M. - **Antiangiogenic treatment of cancer**. *Cirugía Española* 78 (2005) 3–11.
30. GACCHE, Rajesh N.; MESHRAM, Rohan J. - **Angiogenic factors as potential drug target: Efficacy and limitations of anti-angiogenic therapy**. *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer* 1846 (2014) 161–179.
31. INFARMED. IP. - **RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO Avastin®**. EMA. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/avastin-epar-product-information_pt.pdf
32. **Avastin® (bevacizumab) Proposed MOA for Ovarian Cancer | HCP** - Disponível em: <https://www.avastin.com/hcp/ovar/proposed-moa.html>
33. INFARMED. IP. - **RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO Votrient®**. EMA. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/votrient-epar-product-information_pt.pdf

34. CHELLAPPAN, Dinesh; CHELLIAN, Jestin; NG, Zhao Y.; SIM, Yan J.; THENG, Chiu W.; LING, Joyce; WONG, Mei; FOO, Jia Hui; YANG, Goh J.; HANG, Li Y.; NATHAN, Saranyah; SINGH, Yogendra; GUPTA, Gaurav - **The role of pazopanib on tumor angiogenesis and in the management of cancers: A review**. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 96 (2017) 768–781.
35. INFARMED. IP. - **RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO Nexavar®**. EMA. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/nexavar-epar-product-information_pt.pdf
36. INFARMED. IP. - **RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO Zaltrap®**. EMA. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zaltrap-epar-product-information_pt.pdf
37. INFARMED. IP. - **RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO Lusmose®**. EMA. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
38. LI, Tinglu; KANG, Guangbo; WANG, Tingyue; HUANG, He - **Tumor angiogenesis and anti-angiogenic gene therapy for cancer (Review)**. *Oncology Letters* 16 (2018) 687–702.
39. RIBEIRO, Andreia; ABREU, Rui M. V.; DIAS, Madalena M.; BARREIRO, Maria F.; FERREIRA, Isabel C. F. R. - **Antiangiogenic compounds: well-established drugs versus emerging natural molecules**. *Cancer Letters* 415 (2018) 86–105.
40. MATTEO, Anna D.; BELLONI, Elisa; PRADELLA, Davide; CAPPELLETTO, Ambra; VOLF, Nina; ZACCHIGNA, Serena; GHIGNA, Claudia - **Alternative splicing in endothelial cells: novel therapeutic opportunities in cancer angiogenesis**. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research* 39 (2020) 275.