



Jailson Correia Gomes

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Biomarcadores no Mesotelioma Pleural Maligno” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, respetivamente, do Dr. Paulo Monteiro, do Dr. Ricardo Andrade e do Professor Doutor João Nuno Moreira e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Jáilson Correia Gomes

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Biomarcadores no Mesotelioma Pleural Maligno”
referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, respetivamente, do Dr. Paulo Monteiro, do Dr. Ricardo Andrade e
do Professor Doutor João Nuno Moreira e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para
apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Jaílson Correia Gomes, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2012178098, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Biomarcadores no Mesotelioma Pleural Maligno” 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, 15 de setembro de 2017.


(Jaílson Correia Gomes)

Um agradecimento especial...

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e ao seu corpo docente e não-docente.

Ao Professor Doutor João Nuno Moreira pela orientação na monografia.

À comissão de estágios da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra pelas vagas que me concederam para a realização dos estágios.

À Owlpharma e sua equipa por todo o apoio e disponibilidade demonstrada durante o período de estágio.

A toda a equipa da Farmácia São José especialmente ao Dr. Paulo Monteiro pelo acolhimento e pela total disponibilidade.

Aos meus pais e irmãos que apesar da distância sempre me apoiaram neste percurso.

À minha namorada por estar comigo em todos os momentos.

Aos meus amigos por todos os momentos vividos nestes cinco anos.

Índice

Parte I - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária	7
Resumo	8
Abstract	9
Lista de Abreviaturas	10
1- Introdução.....	11
2- Análise SWOT	12
2.1- Pontos Fortes	12
2.1.1- Equipa e direção técnica	12
2.1.2- Serviços Farmacêuticos prestados	12
2.1.3- Organização dos produtos.....	13
2.1.4- Encomendas.....	13
2.1.5- Medicamentos manipulados	14
2.1.6- Dermofarmácia e Cosmética.....	14
2.1.7- Gestão de stock e prazos de validade	15
2.1.8- Conferência de receituário	15
2.1.9- Atendimento ao público	16
2.1.10- A localização geográfica da Farmácia	16
2.2- Pontos Fracos	16
2.2.1- Medicamentos de marca	16
2.2.2- Conteúdos não abordados no MICF	16
2.2.3- Número elevado de estagiários	17
2.3- Oportunidades	17
2.3.1- Sifarma 2000®	17
2.3.2- Formação contínua.....	17
2.3.3- A filosofia Kaizen	18
2.4 Ameaças	18
2.4.1- Medicamentos esgotados.....	18
2.4.2- Constante atualização do preço dos medicamentos.....	18
2.4.3- Utentes.....	18
3- Caso Clínico	19
4- Considerações Finais	20
5- Referências Bibliográficas.....	21
6- Anexo- Ficha de preparação de manipulado.....	22
Parte II - Relatório de estágio em Owlpharma Consulting, Lda	23
Lista de Abreviaturas	24
1- Introdução.....	25
2- Owlpharma Consulting, Lda.	26
3- Análise SWOT	27

3.1- Pontos Fortes	27
3.1.1- Formação acadêmica.....	27
3.1.2- Integração na equipa	27
3.1.3- Execução de atividades no âmbito Regulamentar.....	27
3.1.3.1- Atualização e tradução de textos	27
3.1.3.2- Bridging Report.....	28
3.1.3.3- Execução de Testes de legibilidade FI.....	28
3.1.4- Execução de atividades no âmbito da Farmacovigilância.....	28
3.1.4.1- Pesquisa internacional.....	28
3.1.4.2- Elaboração de Relatórios Periódicos de Segurança.....	29
3.2- Pontos Fracos	29
3.2.1- Garantia de qualidade.....	29
3.3- Oportunidades.....	29
3.3.1- Formação.....	29
3.4- Ameaças	30
3.4.1- Dependência de pedidos dos clientes	30
4- Considerações Finais	31
5- Referências bibliográficas	32
6- Anexo-Teste de legibilidade do FI.....	33
Parte III - Monografia	34
Lista de Abreviaturas.....	35
1- Introdução.....	36
2- Mesotelioma pleural maligno	37
2.1- Patogénese.....	38
2.2- Os subtipos histopatológicos	38
3- Biomarcadores	39
3.1- Biomarcadores no diagnóstico imunohistoquímico do MPM	39
3.1.1- Calretinina.....	39
3.1.2- Citoqueratina 5	40
3.1.3- Podoplanina.....	40
3.1.4- Proteína tumoral de Wilms (WT1).....	40
3.2- Biomarcadores nos fluídos biológicos.....	41
3.2.1- Fibulina-3	41
3.2.2- Hialuronato	41
3.2.3- Mesotelina solúvel/ <i>soluble mesothelin-related peptides</i> (SMRP)	41
3.2.4- Osteopontina (OPN).....	42
3.2.5- MicroRNA (miRNA).....	43
3.2.6- RNA não codificantes de longa cadeia (lncRNAs).....	43
3.3- Marcadores de suscetibilidade	44

4- Imunoterapia.....	44
4.1- A imunoterapia em combinação com terapias citoreduativas.....	44
4.2- Ensaios clínicos com anticorpos monoclonais	46
5. Perspetivas Futuras.....	47
6. Conclusão	48
7. Referências Bibliográficas	49

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia São José, Unipessoal Lda.

Resumo

O estágio curricular, incluído no plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas além de ser uma oportunidade para a consolidação dos 5 anos de formação, é também o início de uma transição do ambiente académico para o mercado de trabalho. Os relatórios estão elaborados sob a forma de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), onde estão destacados os pontos fortes e fracos, bem como as oportunidades e ameaças de cada estágio. Este documento contém ainda a monografia intitulada: “Biomarcadores no Mesotelioma Pleural Maligno”

O MPM (mesotelioma pleural maligno) é um cancro raro e agressivo da pleura ligado à exposição a asbestos. A incidência continua a aumentar no mundo devido à exposição histórica a asbestos. Pode ser caracterizado em três diferentes subtipos histológicos: epitelioide, sarcomatoso e bifásico.

O diagnóstico, prognóstico e previsão do tratamento constituem dificuldades, devido à falta de biomarcadores precisos. Mesotelina tem sido mais estudado e, tem comprovado ser útil como adjuvante no diagnóstico, apesar da baixa sensibilidade. A fibulina-3, hialuronato, LncRNA e microRNA podem ser futuros potenciais biomarcadores no MPM. As mutações no gene *BAP1* (*BRCA1-associated protein 1*) estão relacionadas com a suscetibilidade ao MPM. O MPM é um cancro resistente a quimio e radioterapia. A quimioterapia atual baseada na combinação de pemetrexato (ou raltitrexato) e cisplatina (ou carboplatina) demonstrou uma sobrevida média de 12 meses, mas apresenta vários efeitos secundários. A imunoterapia é uma estratégia terapêutica promissora para o tratamento do MPM.

Palavras-chaves: Asbestos, biomarcadores, imunoterapia, mesotelina, Mesotelioma pleural maligno.

Abstract

Besides being an opportunity for the consolidation of 5 years of training, the curricular internship, included in the study programme of Integrated Master in Pharmaceutical Sciences, is also the beginning of transition from the academic environment to the labor market. The reports are drafted under the *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats* (SWOT) analysis, highlighting the strengths and weaknesses as well the opportunities and threats of each phase. This document also contains the monograph entitled "Biomarkers in Malignant Pleural Mesothelioma.

Malignant pleural mesothelioma (MPM) is a rare and aggressive cancer of the pleura linked to asbestos exposure. The MPM incidence is increasing worldwide due historic asbestos exposure. MPM can be featured in three different histologic subtype: epithelioid, sarcomatous and biphasic.

The diagnostic, prognostic and treatment prediction are difficult due lack of accurate biomarkers. Mesothelin has been more studied and, has proven to be useful as adjuvant diagnostic, despite its low sensibility. Fibulin-3, hialuronate, LncRNA and microRNA may be potential future biomarkers in MPM. Mutations in the gene *BAP1* (BRCA1-associated protein 1) are related with MPM susceptibility. MPM is a cancer resistant to chemo and radiotherapy. The current chemotherapy based in combination of pemetrexed (or raltitrexed) and cisplatin (or carboplatin) showed a median survival of 12 months, but has various side effects. Immunotherapy is a promising therapeutic strategy for treatment of MPM.

Keywords: Asbestos, biomarkers, immunotherapy, Malignant pleural mesothelioma, mesothelin.

Lista de Abreviaturas

DCI - Denominação Comum Internacional

FFUC - Faculdade Farmácia da Universidade de Coimbra

MICF - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM - Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

SWOT - *Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I- Introdução

O estágio curricular na farmácia comunitária, incluído no plano de estudos do MICF (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) da FFUC (Faculdade Farmácia da Universidade de Coimbra) representa a oportunidade para os estudantes aplicarem e aprofundarem os conhecimentos adquiridos ao longo do curso em ambiente laboral.

O Farmacêutico, enquanto agente de saúde pública, desempenha um papel de extrema importância na vida social. É o profissional de saúde a quem os utentes normalmente recorrem em primeiro lugar para tirar as suas dúvidas, pedir sugestões ou tentar resolver pequenos problemas de saúde. Consoante o caso, o farmacêutico dispensa MNSRM (Medicamento Não Sujeitos a Receita Médica) adequado ou reencaminha para o médico em casos mais complicados, para uma avaliação mais profunda.

O meu estágio decorreu na Farmácia São José, entre os meses de janeiro e abril do ano letivo 2016/2017, sob a orientação do proprietário e diretor técnico da Farmácia, Dr. Paulo Monteiro.

Este relatório está elaborado sob a forma de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), onde são realçados os pontos fortes e fracos do meu estágio, bem como as oportunidades e as ameaças.

2- Análise SWOT

A análise SWOT é uma ferramenta utilizada pelas empresas no diagnóstico estratégico [1].

Esta ferramenta está subdividida em duas análises que são complementares:

- Análise interna que resume-se aos pontos fortes e pontos fracos;
- Análise externa que assenta nas oportunidades e ameaças.

2.1- Pontos Fortes

2.1.1- Equipa e direção técnica

A Farmácia São José dispõe de uma equipa jovem e muito diversificada, composta por farmacêuticos, técnicos e ajudantes de farmácia. Cada membro tem uma função específica dentro da equipa, para além do atendimento e prestação de um serviço de qualidade com o foco no utente. O facto de a farmácia ser composta por farmacêuticos jovens permite uma rápida integração dos estagiários na equipa de trabalho. Não menos importantes, os funcionários mais antigos, pelas suas experiências, foram muito importantes neste processo. O Diretor Técnico, um farmacêutico muito dedicado, sempre focado em resolver o problema dos utentes, foi ao longo do estágio um exemplo a seguir. A total disponibilidade de todos os membros da equipa em ajudar os estagiários foi, sem dúvida, um aspeto muito positivo deste estágio, pois todos os dias apareciam novos desafios, mas com a ajuda deles tornaram-se fáceis de resolver. Estes desafios serviram para integrar e sedimentar os conhecimentos adquiridos durante o percurso académico e também ganhar competências para dar resposta a casos semelhantes que poderiam surgir futuramente.

2.1.2- Serviços Farmacêuticos prestados

A Farmácia São José presta um conjunto de serviços, tais como, a determinação de parâmetros bioquímicos (triglicéridos, colesterol total, glicémia), medição da pressão arterial, administração de injetáveis, consultas de nutrição e podologia. Tive a oportunidade de fazer determinações de glicémia, colesterol e também medições da tensão arterial. A prestação destes serviços ajudou-me no aperfeiçoamento das técnicas associadas e também me permitiu transmitir aos utentes, algumas medidas não farmacológicas e realçar a importância de um estilo de vida saudável.

2.1.3- Organização dos produtos

Uma adequada organização é indispensável para que a farmácia preste os seus serviços com a máxima qualidade e eficácia. Na Farmácia São José os produtos expostos nos lineares são agrupados por patologias, o que torna a sua localização um processo rápido. Os produtos destinados a tratar as patologias sazonais são arrumados em locais estratégicos e de fácil visualização por parte dos utentes. A grande maioria dos medicamentos encontram-se arrumados no Robot, o que rentabiliza o espaço da Farmácia, torna a dispensa dos medicamentos um processo mais rápido, para além de minimizar os erros associados à mesma.

Durante o meu estágio pude colaborar nas tarefas relacionadas com a organização dos produtos dentro da Farmácia, o que me permitiu perceber a logística da mesma.

2.1.4- Encomendas

Os medicamentos, antes de estarem na prateleira para serem dispensados aos utentes, passam por um conjunto de processos, sendo um deles a realização da encomenda. Podem ser considerados três tipos de encomendas: as diárias, as instantâneas e as de grande volume.

O Sifarma 2000[®] permite estabelecer um *stock* mínimo e máximo de cada produto existente na farmácia. Quando a quantidade de um determinado produto não está dentro deste *stock* previamente estabelecido, é acionada uma encomenda dita diária à distribuidora que se encontra pré-definida no Software. A Farmácia São José esforça-se em responder aos pedidos dos seus clientes. Neste sentido, quando um produto que não esteja em *stock* é solicitado, faz-se uma encomenda instantânea, que normalmente chega no próprio dia. Em algumas situações especiais, um funcionário vai recolher o produto à distribuidora, satisfazendo de forma rápida o pedido do utente. As encomendas de grande volume são as que são feitas diretamente ao laboratório. Desta forma a Farmácia consegue negociar preços especiais e por outro lado consegue manter um *stock* grande de produtos na Farmácia.

Quando a encomenda chega à farmácia, a primeira coisa a fazer é verificar se há medicamentos que exigem condições especiais de conservação (frigorífico), sendo estes os primeiros a serem arrumados. Antes de serem registados no sistema informático, são conferidos, para se verificar os prazos de validade, os preços e o número de embalagens. Por fim, os medicamentos são arrumados nos locais habituais, sendo que a grande maioria é introduzida no robot.

Durante o estágio tive a oportunidade de desempenhar todas estas atividades relacionadas com as encomendas. Foi um ponto forte do meu estágio, porque fiquei com uma visão ampla da gestão dos produtos na farmácia, e também me permitiu conhecer os nomes comerciais dos medicamentos, o que viria a ser muito útil no atendimento ao público.

2.1.5- Medicamentos manipulados

A preparação de medicamentos manipulados a nível da farmácia de oficina é cada vez menos frequente. Ainda assim, costumam surgir algumas prescrições de manipulados para ajuste de doses ou para satisfazer uma necessidade do mercado. A Farmácia São José é uma das farmácias de referência a nível da preparação de manipulados na região de Coimbra. A gestão do *stock* das matérias-primas, dos fornecedores, das quebras, dos preços e dos clientes habituais é assegurado pelo software SoftGaleno®.

Durante o estágio tive a oportunidade de colaborar na preparação de uma pomada de enxofre precipitado (Anexo - Ficha de preparação de manipulado) indicado para o tratamento da sarna. Além disso, colaborarei na formulação de outros medicamentos manipulados que foram solicitados.

Foi uma grande vantagem ter participado na preparação de medicamentos manipulados, uma vez que pude de uma forma integrada aplicar os conhecimentos adquiridos nas diferentes unidades curriculares, nomeadamente Farmácia Galénica e Tecnologia Farmacêutica e também aperfeiçoar as técnicas de preparação.

2.1.6- Dermofarmácia e Cosmética

Os utentes, antes de adquirirem qualquer produto cosmético solicitam na maioria das vezes a opinião do farmacêutico sobre o impacto que este mesmo produto poderá ter na sua pele, ou seja, se é o melhor e o mais indicado para o seu tipo e estado de pele. Para fazer o melhor aconselhamento e atender ao pedido dos utentes, o farmacêutico deve estar atualizado, conhecer os diversos produtos existentes na farmácia e as diferenças entre eles. A Farmácia São José trabalha com várias marcas de produtos de Dermofarmácia e Cosmética, o que foi uma grande vantagem, pois fiquei muito mais capacitado para os aconselhar. Outro aspeto positivo tem a ver com o facto de existir na equipa da Farmácia São José uma funcionária com conhecimento muito amplo nesta matéria, o que foi uma mais-valia durante o estágio.

2.1.7- Gestão de stock e prazos de validade

A Farmácia São José tem um *stock* muito grande de determinados produtos, sendo por isso indispensável a gestão dos prazos de validade.

Durante o estágio foi-me dada a oportunidade de colaborar na contagem física para o acerto de *stock*. Quando apareciam erros de *stock* na contagem física ou durante o atendimento, eram registados numa lista de *stocks* errados.

O prazo de validade dos produtos era sempre tido em conta quer na arrumação, quer no atendimento, dando sempre a prioridade ao produto com a validade mais curta. Uma boa gestão dos prazos de validade reduz os prejuízos da farmácia, uma vez que nem todos os laboratórios aceitam devoluções de produtos fora de prazo.

2.1.8- Conferência de receituário

Podem ser consideradas três tipos de receitas médicas: as eletrónicas desmaterializadas, as materializadas e as manuais. É cada vez mais comum os utentes se apresentarem na farmácia com receitas eletrónicas desmaterializadas, o que representa uma vantagem tanto para os utentes como para os farmacêuticos. Para os farmacêuticos minimiza os erros no ato da dispensa dos medicamentos, no caso dos utentes possibilita-os aviar a receita por linhas, consoante as necessidades. As receitas eletrónicas materializadas, apesar de minimizarem os erros, ao contrário das desmaterializadas, não permitem ao utente aviar por linhas. Por fim, as receitas manuais que aparecem com menos frequência, requerem uma atenção redobrada por parte do farmacêutico no ato da dispensa dos medicamentos prescritos. Apesar das receitas passarem por um processo de validação antes de serem aviadas, por vezes são cometidos alguns erros. Na Farmácia São José, diariamente as receitas são organizadas por organismos e lotes para depois serem conferidas. Numa primeira fase são conferidas por estagiários e, posteriormente por uma Farmacêutica indicada para tal. Esta primeira fase de conferência consiste em verificar se o número da receita corresponde ao impresso no verso da mesma, a validade da receita, as exceções, a vinheta do médico e do local de prescrição, a faturação no organismo correto, a assinatura do médico, do utente e do profissional que aviou a receita nos locais apropriados. A conferência de receituário foi um aspeto positivo do meu estágio, porque permitiu-me conhecer os vários regimes de comparticipação o que viria a ser muito útil no atendimento. Além disso, tive a oportunidade de comunicar com médicos no centro de saúde a propósito da correção de erros nas receitas.

2.1.9- Atendimento ao público

O farmacêutico deve explicar ao utente todos os pormenores relacionados com a utilização correta dos medicamentos e esclarecer as dúvidas que possam surgir. Uma vez que os MNSRM podem ser adquiridos noutros estabelecimentos além das farmácias, o atendimento ao público constitui uma oportunidade para o farmacêutico se diferenciar, prestando um serviço de qualidade e resolvendo o problema do utente.

O atendimento ao público foi para mim o maior desafio neste estágio, por várias razões. Pude colocar ao serviço dos utentes os conhecimentos adquiridos durante o curso e consolida-los, ganhar competência ao nível da comunicação e verificar o reconhecimento dos utentes pelos serviços que lhe prestamos. Pelas razões aqui mencionadas, o atendimento ao público foi um ponto forte do meu estágio.

2.9.10- A localização geográfica da Farmácia

A Farmácia São José, pela sua localização, é frequentada por vários tipos de clientes. Para garantir que o utente perceba a informação que lhe transmitimos, devemos adequar a nossa linguagem. Este aspeto foi muito positivo, uma vez que permitiu desenvolver as minhas competências a nível da comunicação quer com o utente, quer com profissionais de saúde, nomeadamente médicos, que frequentemente apareciam na Farmácia.

2.2- Pontos Fracos

2.2.1- Medicamentos de marca

O reconhecimento dos medicamentos de marca foi um obstáculo no início do meu estágio. Muitos nomes de medicamentos de marca não estão diretamente relacionados com a designação DCI (Denominação Comum Internacional) dos princípios ativos, o que dificulta ainda mais a associação da designação comercial aos princípios ativos.

Ao longo do curso, em raras ocasiões tive contacto com os nomes comerciais dos medicamentos, razão pela qual tive algumas dificuldades no início do estágio em reconhecer medicamentos pela designação comercial.

2.2.3- Conteúdos não abordados no MICE

Apesar de termos tido uma unidade curricular de Dermofarmácia e Cosmética no plano de estudos do MICE, não foi suficiente para dar resposta às várias situações que apareceram ao longo do estágio.

Uma vez que estão sempre a surgir novos produtos cosméticos no mercado, talvez a forma mais eficiente de ganhar competência para os aconselhar seja através da experiência que se adquire ao longo do exercício da profissão. De realçar que apesar de ter tido imensas dificuldades a este nível, o apoio dos colegas da farmácia foi fundamental para prestar o melhor aconselhamento aos utentes.

2.2.2! Número elevado de estagiários

A Farmácia São José pela sua dimensão tem por hábito aceitar um número considerável de estagiários. Apesar da excelente organização e gestão do pessoal, o número elevado de estagiários foi um aspeto menos positivo, uma vez que em algumas ocasiões teve implicações a nível de oportunidades.

2.3- Oportunidades

2.3.1- Sifarma 2000®

O Sifarma 2000® é o *software* de suporte à execução da maioria das tarefas inerentes ao funcionamento da farmácia, desde a encomenda do produto à sua cedência no balcão. Durante o estágio tive contacto com o programa Sifarma 2000® para fazer a gestão de produtos e prazos de validade, impressão de etiquetas dos produtos de venda livre, encomenda e devolução de produtos, entre outras tarefas.

2.3.2- Formação contínua

O artigo 12º do código deontológico da Ordem dos Farmacêuticos destaca o dever da atualização técnica e científica dos Farmacêuticos [2].

Durante o meu estágio tive a oportunidade de participar em várias ações de formação promovidas por delegados de informação médica. Além disso participei em ações de formação promovidas pelas indústrias onde foram abordados temas como a renite alérgica, venotrópicos, cuidados na gravidez e infeções vaginais. Estas formações foram muito importantes, pois permitiram-me conhecer melhor os produtos e as situações em que são mais indicados, dando assim uma melhor resposta às várias situações que apareciam na farmácia.

2.3.3- A filosofia Kaizen

A filosofia Kaizen assenta num processo de melhoria contínua das organizações, com base na maximização dos recursos e minimização dos desperdícios [3]. No âmbito desta filosofia, a equipa da Farmácia São José reunia semanalmente com o objetivo de verificar o funcionamento das campanhas promocionais em curso, as metodologias a serem implementadas, bem como oportunidades de melhoria para atingir os objetivos propostos. Tive a oportunidade de participar nestas reuniões que contribuíram para o meu melhor desempenho durante o estágio.

2.4! Ameaças

2.4.1- Medicamentos esgotados

Os utentes quando se deslocam à farmácia esperam uma certa atenção da parte dos farmacêuticos e mais importante ainda, esperam ver os seus problemas resolvidos. Não é menos verdade que caso os problemas não sejam resolvidos, se gere uma certa insatisfação no utente.

Uma das razões que conduz a esta insatisfação é quando a Farmácia não dispõe do medicamento pretendido pelo utente. Durante o meu estágio, pude verificar esta situação com o Brufen 600 mg que esteve esgotado durante algum tempo. A procura era enorme, poucos utentes aceitavam genéricos e nem sempre percebiam a razão pela qual este medicamento não estava disponível na farmácia.

2.4.2- Constante atualização do preço dos medicamentos

Os preços dos medicamentos estão em constante atualização e, uma vez que nas novas receitas os preços vêm discriminados, isto gera uma certa confusão no utente e diminui a sua relação de confiança com o farmacêutico. Esta questão é ainda mais pertinente quando é um estagiário a fazer a dispensa, o que aumenta ainda mais o nível de desconfiança.

2.4.3- Utentes

Muitos utentes não gostam de ser atendidos por estagiários, pois desconfiam das suas capacidades. Dada a nossa inexperiência ao nível do atendimento ao público, é natural que demorem mais tempo no atendimento comparativamente aos funcionários, situação que nem sempre foi compreendida pelos utentes.

3- Caso Clínico

Utente do sexo feminino, com idade entre 35-40 anos, sem qualquer problema de saúde crónico, aparece na farmácia com queixas de muita expetoração e de não as conseguir eliminar. Foi-lhe receitado pelo seu médico de família Fluimucil 600 mg, cuja ação farmacológica é a fluidificação do muco para facilitar a sua eliminação [4]. A utente encontrava-se no terceiro dia do tratamento. Pediu-me que lhe sugerisse outro produto, pois o tratamento com Fluimucil não estava a ser eficaz e não tem notado melhorias. Perguntei à utente se tem por hábito ingerir líquidos e a sua resposta foi que tem muita dificuldade e que normalmente bebe muito poucos líquidos. Expliquei à utente, de forma simples o mecanismo de ação do medicamento e a importância da ingestão de líquidos para a eficácia do tratamento em causa. Sugeri que continuasse o tratamento e que beba muitos líquidos. Não dispensei mais nenhum medicamento.

4- Considerações Finais

O estágio curricular em farmácia de oficina foi para mim uma experiência muito positiva. Pude verificar in loco a importância que o Farmacêutico tem no seio da comunidade, o impacto da sua intervenção na qualidade de vida das pessoas, bem como a dinâmica de funcionamento da farmácia de oficina.

A situação económica das Farmácias Portuguesas não é muito favorável, mas na minha opinião tem todas as condições para inverter a situação atual. Para isso, a implementação de novas políticas como o serviço de acompanhamento farmacoterapêutico paga pelo estado e a extensão da lista de MNSRM de venda exclusiva nas farmácias poderão beneficiar as farmácias de oficina.

Estagiar na Farmácia São José foi uma mais-valia para a minha formação académica, pois fez-me crescer tanto a nível pessoal como a nível profissional. Além disso, deu-me as bases fundamentais para exercer a profissão em farmácia de oficina.

5- Referências Bibliográficas

- [1] IAPMEI- A análise SWOT. - [Acedido a 23 de julho de 2017]. Disponível na Internet: <https://www.iapmei.pt/getattachment/PRODUTOS-E-SERVICOS/Empreendedorismo-Inovacao/Empreendedorismo/Guias-praticos/A-analise-SWOT.pdf.aspx> [acedido a 23 de Junho de 2017]
- [2] ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos. [Acedido a 12 de julho de 2017]. Disponível na Internet: <http://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/a-ordem-dos-farmaceuticos/regulamentos/>
- [3] KAIZEN INSTITUTE – o que é Kaizen? [Acedido a 14 de julho de 2017]. Disponível na Internet: <https://pt.kaizen.com/quem-somos/significado-de-kaizen.html>
- [4] Resumo das Características do Medicamento – Fluimucil 600mg, [Acedido a 14 de julho de 2017]. Disponível na Internet: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=608495&tipo_doc=rcm

6- Anexo Ficha de preparação de manipulado

Farmácia
São José

Pomada de Enxofre Precipitado (VASELINA SÓLIDA)

Cliente:

Forma Farmacêutica: POMADA

Data de Preparação: 20/03/2017

Prazo Validade : 16/09/2017

Nº Lote : 19.III.17

Registo Copiador : 1.273

Condições de Conservação : Em recipiente bem fechado e à temperatura ambiente.

Posologia:

Qtd. Total Medicamento : 1 X 50,00 g

Director Técnico : Dr. Paulo Monteiro

Operador : Dra. Marta Abreu

Médico:

Honorários:	4,89 €
Factor Multiplicativo:	3,00

Valor Net :	22,97 €
Valor IVA :	1,38 €
Valor Total:	24,35 €

Valor PVP
24,35 €

Matérias Primas	Usar	Nº Lote	Origem	Qtd. Usada	Unid	Preço Aq. s/ IVA	Factor Multiplic.	Preço Mat.prima
Vaselina Branca		160913-P-	Acofarma	47,00	g	0,01 €	1,90	0,80 €
Enxofre Precipitado		160983-N-	Acofarma	3,00	g	0,03 €	2,20	0,20 €
Subtotal								1,00 €

Preparação

Verificar estado de limpeza e conservação do material e laboratório.

Pesar e pulverizar o enxofre precipitado.

Transferir para o recipiente unguator e adicionar a vaselina até perfazer a quantidade necessária.

Misturar no unguator até obter uma mistura homogénea.

Fechar e rotular a embalagem.

Limpar e arrumar o material e laboratório.

Aparelhagem

Balança electrónica

Unguator B

Embalagem	Tipo	Nº Lote	Fornecedor	Capac	Qtd	Preço	Fact. Mult.	Valor Net
Unguator 50/70	EMBAL		Plural	50/70 m	1,00	1,67 €	1,20	2,00 €
Subtot								2,00 €

Ensaio	Especificação	Conforme	Utilizador	Assinatura
Cor	Amarelo	<input checked="" type="checkbox"/>	05	
Odor	Característico do Enxofre	<input checked="" type="checkbox"/>	05	
Aspecto	Homogéneo	<input checked="" type="checkbox"/>	05	
Quantidade	50 g +/- 5%	<input checked="" type="checkbox"/>	05	

20/3/2017

(Data)

(Assinatura)

Parte II

Relatório de Estágio em Owlpharma Consulting, Lda.

Lista de Abreviaturas

AIM - Autorização de Introdução no Mercado

eCTD - *electronic Common Technical Document*

EMA - *European Medicines Agency*

FFUC - Faculdade Farmácia da Universidade de Coimbra

FI - Folheto Informativo

MICF - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM - Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

MSRM - Medicamento Sujeito a Receita Médica

PAR - *Public Assessment Report*

PSURs - *Periodic Safety Update Reports*

PQR - Revisão da Qualidade do Produto

QRD - *Quality Review of Documents*

RCM - Resumo das Características do Medicamento

RPS - Relatórios Periódicos de Segurança

SOPs - *Standart Operating Procedures*

SWOT - *Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats*

XEVMPD - extended EudraVigilance medicinal product dictionary

I- Introdução

A FFUC (Faculdade Farmácia da Universidade de Coimbra) dá aos seus estudantes do MICF (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas), uma formação multifacetada que os possibilita o exercício da profissão em várias outras áreas de atividade para além da farmácia de oficina. O estágio curricular além de permitir ao estudante o contacto com o ambiente laboral e profissionais experientes, permite integrar os conhecimentos adquiridos ao longo do curso.

A situação económica atual das farmácias de oficina não é favorável, sendo uma mais-valia para os estudantes a exploração de outras áreas de atividade relacionadas com o medicamento por meio de estágios curriculares.

A Owlpharma é uma consultora farmacêutica especializada em Assuntos Regulamentares, Farmacovigilância e Garantia de Qualidade.

Este relatório foi realizado em formato de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), com destaque aos pontos fortes e fracos, bem como as oportunidades e ameaças.

2- Owlpharma Consulting, Lda.

A Owlpharma Consulting, Lda. é uma empresa de consultoria virada para o setor farmacêutico, fundada em 2013. Com a sua sede no Instituto Pedro Nunes, esta empresa tem ao dispor dos seus clientes, serviços concebidos para abranger o ciclo de vida de produtos de saúde, especializada em Assuntos Regulamentares, Farmacovigilância e Garantia de Qualidade. A equipa é constituída exclusivamente por farmacêuticos distribuídos por estas três áreas de atividade.

Na área de Assuntos regulamentares a Owlpharma presta uma variedade de serviços que incluem: Preparação e gestão de pedidos de AIM (Autorização de Introdução no Mercado); Preparação e gestão de alterações e renovações aos termos das AIM; Preparação, revisão e auditoria de *dossiers* de AIM; Conversão de *dossiers* de AIM em formato eCTD (*electronic Common Technical Document*); Relatórios de perito/ *Medical Writing*; Avaliação do risco ambiental do medicamento; Elaboração e revisão de FI (Folheto Informativo), RCM (Resumo das Características do Medicamento) e Rotulagem; Elaboração de Testes de Legibilidade e *Bridging Reports*; Introdução e manutenção de dados do Produto via XEVMPD (*extended EudraVigilance medicinal product dictionary*) ; Revisão de eventos e peças publicitárias e notificação às autoridades competentes; Pedidos de preços e participações, e o Suporte à comercialização e marketing dos produtos.

Quanto à Farmacovigilância, os serviços mais frequentemente prestados incluem: Pesquisa na literatura nacional e internacional; O Reporte de Casos; Planos de Gestão de Risco; Elaboração de RPS (Relatórios Periódicos de Segurança); Formação e Auditorias; Detecção de sinal e avaliação do benefício-risco.

Na área da Garantia de Qualidade os serviços incluem: Auditorias (BPF; BPD; ISO9001); Preparação e revisão de SOPs (*Standart Operating Procedures*); Implementação e revisão de Sistema de Gestão da Qualidade; PQR (Revisão da Qualidade do Produto); Planos de análise de riscos (e.g. BPF nos excipientes); Formações; Apoio no Licenciamento/certificação junto das autoridades competentes.

A Owlpharma presta estes serviços a empresas nacionais e internacionais.

3- Análise SWOT

3.1- Pontos Fortes

3.1.1- Formação académica

O plano de estudos do MICF garante aos estudantes um conjunto de conhecimentos e competências para exercerem atividade nas diversas áreas do setor Farmacêutico. Para este estágio, para além de outras unidades curriculares, foram muito importantes os Assuntos Regulamentares, a Gestão e Garantia de Qualidade, a Farmacovigilância e Epidemiologia.

Ter estudado estas unidades curriculares, proporcionou-me uma melhor compreensão e aproveitamento das atividades desenvolvidas, sendo por isso um ponto forte do estágio.

3.1.2- Integração na equipa

A Owlpharma Consulting, Lda. dispõe de quadros Farmacêuticos jovens, experientes e altamente motivados. Todos os profissionais sempre mostraram total disponibilidade para me ajudar nas diversas tarefas que me delegavam, além da explicação prévia no início da execução das mesmas.

3.1.3- Execução de atividades no âmbito Regulamentar

3.1.3.1- Atualização e tradução de textos

Foi-me dada a oportunidade de analisar e comparar o FI, RCM, acondicionamento primário e secundário de vários medicamentos com o template QRD (*Quality Review of Documents*) da EMA (*European Medicines Agency*). Caso houver alguma diferença, ela é assinalada para posterior correção de modo a ficar de acordo com as atualizações do QRD [1].

No decorrer do estágio pude fazer a tradução de textos (FI, RCM e Rotulagem), que juntamente com a atualização dos mesmos (segundo o template QRD da EMA), permitiram-me perceber melhor a estrutura dos referidos textos, a informação que deve estar obrigatoriamente presente, além do contacto contínuo com a língua inglesa.

3.1.3.2- Bridging Report

Cada autorização de comercialização é acompanhada de informações, que dão garantias de que os utilizadores do medicamento conseguem localizar e perceber as informações contidas no FI, garantindo uma utilização segura. Um *Bridging Report* consiste num estudo comparativo entre o FI “filho”, que é o FI que está a ser testado e o FI “pai”, cuja legibilidade está comprovada. Para além dos dois FIs, é o relatório suportado pela informação presente num PAR (*Public Assessment Report*) que comprova a legibilidade do FI “pai”. Para o design e layout, deve haver uma comparação crítica entre ambos os FIs com o objetivo de demonstrar que o design e layout do FI “filho” é adequado. As diferenças entre os dois FIs devem ser realçadas e justificadas, de forma a demonstrar que não comprometam a legibilidade do FI a ser testado [2].

3.1.3.3- Execução de Testes de legibilidade FI

De forma a garantir a utilização segura e efetiva do medicamento, deve ser demonstrado que o FI é legível. Durante o meu estágio, por duas ocasiões, participei na execução de testes de legibilidade de FI (Anexo - Fluxograma de trabalho). Para executar os testes, foi-nos dada a formação prévia, onde o formador explicou-nos todo o procedimento. Além disso, no âmbito regulamentar pude auxiliar numa alteração do tipo II aos termos da AIM, correspondendo à reclassificação do medicamento de MSRM (Medicamento Sujeito a Receita Médica) a MNSRM (Medicamento Não Sujeito a Receita Médica), transferência do titular de AIM de uma firma para a outra e análise de material promocional.

3.1.4- Execução de atividades no âmbito da Farmacovigilância

3.1.4.1- Pesquisa internacional

Semanalmente participava na pesquisa internacional de artigos publicados na base de dados da PubMed, cujos conteúdos estavam relacionados com as substâncias ativas a serem monitorizadas pela equipa de Farmacovigilância. Os termos incluídos na pesquisa eram selecionados de acordo com as recomendações da *Guideline* das Boas Práticas em Farmacovigilância.

Os artigos eram analisados e classificados como relevantes ou não relevantes para a Farmacovigilância, de acordo com o tipo de informação que continham. Posteriormente os resultados relevantes da pesquisa são notificados ao cliente.

Os resultados considerados relevantes podem ser: reações adversas, informações de segurança ou um problema de segurança emergente, consoante o caso.

3.1.4.2- Elaboração de Relatórios Periódicos de Segurança

Os PSURs (*Periodic Safety Update Reports*) são relatórios que fornecem uma avaliação da relação entre o benefício e o risco de um medicamento. São incluídos neste relatório todos os estudos efetuados com este medicamento, tanto na sua utilização aprovada como em uso *off-label*. É da responsabilidade do titular da AIM apresentar PSUR em períodos de tempo definidos, seguida da autorização do medicamento [3]. Durante o meu estágio, auxiliei na pesquisa bibliográfica na base de dados PubMed e seleção dos artigos para a construção dos PSURs. Os artigos selecionados eram divididos em quatro categorias: A- Casos de RAMs (Reações Adversas ao Medicamento) notificados na literatura; B- Utilização em situações especiais (Pediatria, Gravidez e exposição pré-natal, overdose, abuso, mau uso, falta de eficácia, amamentação e exposição ocupacional), uso *off-label* e interações medicamentosas; C- Estudos de segurança; D- Estudos de Eficácia. Os *abstract* destes artigos são incluídos nos PSURs.

A execução destas atividades foi um ponto forte do meu estágio, pois permitiram-me conhecer a realidade profissional da Farmacovigilância e dos Assuntos Regulamentares e adquirir bases para no futuro exercer a profissão nestas duas áreas.

3.2- Pontos fracos

3.2.1- Garantia de Qualidade

Apesar da Garantia de Qualidade ser uma das áreas de atividade da Owlpharma, durante o meu período de estágio não tive a oportunidade de trabalhar e aprofundar os meus conhecimentos nesta matéria. Identifico como principais razões o período de estágio e o facto de algumas atividades serem executadas fora da sede da empresa.

3.3- Oportunidades

3.3.1- Formação

Tive a oportunidade de participar em duas formações: uma no âmbito da Farmacovigilância e a outra no âmbito da execução de testes de legibilidade.

Na primeira o formador transmitiu-nos conhecimentos ao nível do papel da Farmacovigilância, a importância da EMA, os vários termos utilizados e os respetivos significados, assim como a metodologia utilizada pela empresa na execução das tarefas.

Na formação sobre a execução de testes de legibilidade o formador explicou-nos em que consiste o teste, as suas características e fases, o critério de aceitação, a distribuição uniforme dos entrevistados e as normas de conduta.

Estas formações foram muito úteis na prática e contribuíram para o meu desempenho durante o estágio.

3.4- Ameaças

3.4.1- Dependência de pedidos dos clientes

As atividades desenvolvidas diariamente pela empresa dependem dos pedidos que são feitos pelos clientes. Esta dependência constituiu uma ameaça ao meu estágio, pois quando havia poucas tarefas, estas eram executadas pelos funcionários.

4- Considerações Finais

O estágio curricular na empresa Owlpharma foi uma mais-valia para a minha formação, não só pelos conhecimentos adquiridos, mas também pela experiência única e enriquecedora.

A EMA e o INFARMED – Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. são plataformas de informação muito valiosas no desempenho das atividades da área regulamentar e da Farmacovigilância. O contacto frequente com estas plataformas durante o período de estágios contribuiu imenso para o conhecimento que hoje tenho ao nível da consultoria no sector farmacêutico.

Este estágio permitiu-me ter uma visão ampla do papel do farmacêutico neste sector, não só pelas atividades que desempenhei, mas também pelo contacto diário com profissionais muito experientes.

5- Referências Bibliográficas

[1] European Medicines Agency - Quality Review of Documents. [Acedido a 23 de junho de 2017]. Disponível na Internet:

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Regulatory_and_procedural_guideline/2009/10/WC500005091.pdf

[2] Heads of Medicines Agencies- Recommendations for bridging [Acedido a 26 de julho de 2017]. Disponível na Internet.

http://www.hma.eu/uploads/media/patient_consultation_bridging.pdf

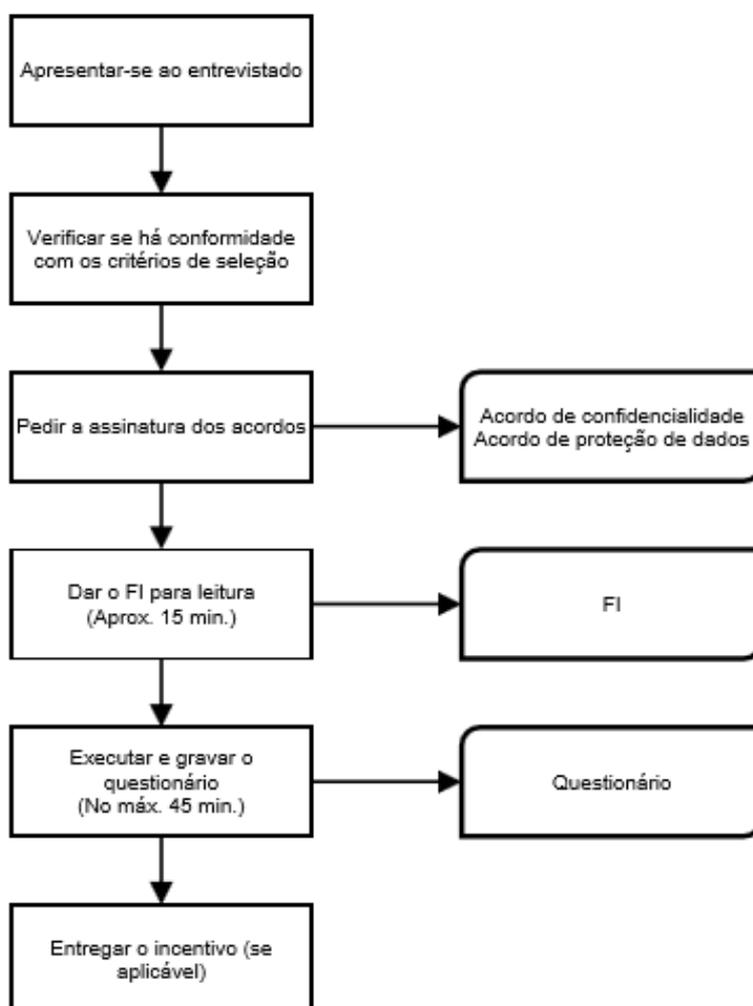
[3] European Medicines Agency- Periodic safety update reports [Acedido a 04 de julho de 2017]. Disponível na Internet:

http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000361.jsp

6- Anexo - Teste de legibilidade do FI

I – Fluxograma de trabalho

Ronda piloto	1ª Ronda (Teste)	2ª Ronda (Validação)
4 Participantes	10 Participantes (com sucesso)	10 Participantes (com sucesso)



Parte III

Monografia

Biomarcadores no Mesotelioma

Pleural Maligno

Lista de Abreviaturas

BAP1 – *BRCA1-Associated Protein 1*
CTLA-4 - *Cytotoxic T Lymphocyte-Associated Antigen 4*
EFEMP1 - *Fibulin-Like Extracellular Matrix Protein 1*
EGFR - *Epidermal Growth Factor Receptor*
HMGB1 - *High Mobility Group Box 1*
IARC - *International Agency for Research on Cancer*
LncRNA - *Long non-coding RNA*
MDSC - *Myeloid-Derived Suppressor Cells*
MHC - *Major Histocompatibility Complex*
miRNA - *microRNA*
MPM - *Mesotelioma Pleural Maligno*
OPN - *Osteopontina*
OS - *Overall Survival*
PD-1 - *Programmed Death-1*
PFS - *Progression-Free Survival*
RNS - *Reactive Nitrogen Species*
ROS - *Reactive Oxygen Species*
SMRP - *Soluble Mesothelin-Related Peptide*
SOMAmers - *Slow Off-Rate Modified Aptamers*
SV40 - *Simian Virus 40*
TGF- β - *Transforming Growth Factor Beta*
TNF- α - *Tumor Necrosis Factor- α*
Treg - *T regulatory*
VEGF-A - *Vascular Endothelial Growth Factor A*

I- Introdução

O mesotelioma maligno é um cancro primário que afeta as cavidades serosas, tendo a sua origem nas células mesoteliais que revestem as cavidades pleurais, pericárdicas, peritoneais, assim como a túnica vaginal. No entanto, surge com mais frequência na cavidade pleural (Davidson, 2015).

O MPM (Mesotelioma Pleural Maligno) é um cancro raro, agressivo, com origem nas células mesoteliais pleurais, fortemente associado com a exposição ocupacional a asbestos, tendo um tempo de sobrevida média de 12 meses. Além da exposição ocupacional, são conhecidos casos de exposição para-ocupacional, ambiental e doméstica. A pré-disposição genética, exposição a radiação e infecção viral são co-fatores que quer isoladamente quer em conjunto com a exposição a asbestos podem ser causas do MPM (Panou *et al.*, 2015; Maggioni *et al.*, 2016).

A IARC (*International Agency for Research on Cancer*) classifica todos os tipos de asbestos como classe I e considera a exposição a asbestos a maior causa do mesotelioma pleural e peritoneal (Røe e Stella, 2015).

A incidência desta doença está estimada em 1-6/100.000, mas devido à exposição histórica a asbestos nos países desenvolvidos e ainda nos países em desenvolvimento, é provável que esta incidência venha a aumentar no futuro. O diagnóstico constitui um grande desafio devido à sua semelhança em termos clínicos e aparência histológica com outras malignidades que afetam o pulmão, nomeadamente o adenocarcinoma pulmonar (Ziegler *et al.*, 2012; Panou *et al.*, 2015).

A deteção precoce de biomarcadores no soro poderá melhorar o diagnóstico e a resposta ao tratamento. Um grande número de biomarcadores para o diagnóstico, prognóstico, gestão da doença, estabelecimento de riscos e a escolha de terapêutica têm sido propostos. No entanto, para estes marcadores serem aplicados na prática clínica, devem apresentar vantagem comparativamente aos marcadores existentes, no que diz respeito a procedimentos clínicos, sensibilidade, seletividade e acima de tudo serem rentáveis (Cerciello *et al.*, 2013; Creaney *et al.*, 2015).

Apesar de ser conhecido a causa da doença, as abordagens terapêuticas têm estado longe de serem eficazes. A quimioterapia com pemetrexato e cisplatina apresentou melhores resultados ao nível da sobrevida média, taxa de resposta e tempo para a progressão da doença (Vogelzang *et al.*, 2003; Vandermeers *et al.*, 2013).

A imunoterapia tem sido encarada como uma abordagem promissora no tratamento do MPM (Maggioni *et al.*, 2016).

Nesta monografia focarei nos principais biomarcadores descritos para fazer o diagnóstico e avaliar a suscetibilidade, além da descrição de outros que são monitorizados nos fluidos biológicos. Além disso, farei uma breve contextualização da doença, bem como o papel da imunoterapia como uma abordagem promissora para o tratamento da doença.

2- Mesotelioma pleural maligno

O MPM é um cancro raro e agressivo, induzido por asbestos e que apresenta resistência a quimio e radioterapia (Giusti *et al.*, 2016). Caracteriza-se por um prognóstico muito pobre, devido a sua elevada resistência aos tratamentos oncológicos convencionais e também devido ao diagnóstico num estado avançado. Mesmo que o uso das fibras de asbestos tenha sido proibido em muitos países desenvolvidos, é expectável que a incidência de MPM venha a aumentar na próxima década, por um lado devido ao uso de asbestos nos países em desenvolvimento e, por outro lado devido ao longo período de latência entre a primeira exposição e o aparecimento da doença, tornando uma preocupação relevante para a saúde nas próximas décadas. Os conhecimentos recentes da biologia molecular do MPM têm conduzido à identificação de biomarcadores prognósticos promissores, o que contribuirá para a individualização das abordagens terapêuticas (Liu *et al.*, 2015).

Vários estudos epidemiológicos descrevem que o mesotelioma é mais comum nos homens do que nas mulheres (5:1), devido à exposição ocupacional. Outros alegam que a suscetibilidade está relacionada com o sexo.

Asbestos é um termo utilizado na designação de uma família de minerais de ocorrência natural, e estão classificados em dois principais grupos, as serpentinas e as anfíbolas. Dentro da família das serpentinas existe um tipo, crisótilo, também chamado asbesto branco, devido à sua cor e é o mais utilizado a nível comercial. A família das anfíbolas inclui crocidolite (asbesto azul), amosite, tremolita, actinolite e antofilita. O aparecimento do mesotelioma também tem sido associado aos efeitos a longo prazo da radiação ionizante, no entanto com menor impacto do que a exposição às fibras de asbestos (Røe e Stella, 2015).

Além da exposição a radiação ionizante, a infeção pelo SV40 (*Simian virus 40*) é também considerada um co-carcinogénio. O SV40 é um poliomavírus com origem nos macacos, encontrado em tumores humanos. Este vírus contribui para a transformação de células humanas através de perturbação de várias vias intracelulares, como a desativação de vias supressoras de tumor, p53 e retinoblastoma (Sekido, 2013).

2.1- Patogênese

Os mecanismos subjacentes ao aparecimento do MPM como resultado da exposição a asbestos têm sido elucidados. Três mecanismos principais têm sido propostos:

- Danos no DNA provocados por ROS (*Reactive Oxygen Species*) e RNS (*Reactive Nitrogen Species*), provenientes de células mesoteliais e macrófagos expostos às fibras de asbestos.
- As fibras de asbestos absorvem proteínas e químicos que podem conduzir à acumulação de carcinogênios.
- As células mesoteliais e macrófagos expostos a asbestos libertam citocinas e fatores de crescimento, como HMGB1 (*High Mobility Group Box 1*) e TNF- α (*Tumor Necrosis Factor- α*) que induzem a inflamação e transformação maligna das células mesoteliais com danos acumulados no DNA (Bononi *et al.*, 2015).

Algumas características das fibras de asbestos contribuem para a sua carcinogenicidade, entre elas a composição química, a forma, o tamanho, e também a sua biopersistência.

Para além da formação de ROS e RNS, que têm efeito genotóxico, a resposta local à presença das fibras inclui também *frustrated phagocytosis*, início de mecanismos inflamatórios, estimulação de fatores de crescimento e dos seus recetores, e início da estimulação de vias de transdução do sinal, que levam à proliferação e impedimento da apoptose (Sekido, 2013).

2.2- Os subtipos histopatológicos

São conhecidos três subtipos histológicos de MPM: epitelióide, bifásico e sarcomatoso. Os dois primeiros têm um imunofenótipo relativamente bem caracterizado e representam 75-95% dos casos. Relativamente ao subtipo sarcomatoso, poucos estudos têm sido publicados e o seu diagnóstico constitui um desafio (Panou *et al.*, 2015).

O subtipo bifásico é caracterizado pela presença simultânea de células epitelióides e sarcomatosas, estando a resposta ao tratamento dependente do ratio entre estes dois subtipos celulares. A prevalência de células sarcomatosas está associada com um pior prognóstico. O subtipo epitelióide responde melhor ao tratamento, comparativamente aos outros subtipos (Davidson *et al.*, 2015; Giusti *et al.*, 2016).

3- Biomarcadores

Um biomarcador é definido como uma característica que é medido e avaliado de forma objetiva como um indicador de processos biológicos normais, patogénese ou resposta a uma intervenção terapêutica. São conhecidas outras aplicações dos biomarcadores tais como: uma ferramenta de diagnóstico; um indicador de prognóstico de doenças; monitorização da resposta clínica a uma intervenção e estadiamento da doença (Atkinson *et al.*, 2001).

Um biomarcador ideal para o MPM deve ser capaz de prever o aparecimento da doença em indivíduos que foram expostos ao carcinógeno, identificar a doença e fazer o diagnóstico diferencial (entre doenças similares e subtipos de MPM), além de monitorizar a resposta ao tratamento e prever o prognóstico. A estas, junta-se ainda a possibilidade de ser quantificada em amostras biológicas, através de métodos não invasivos ou pouco invasivos e apresentar baixo custo (Pantazopoulos *et al.*, 2013).

3.1- Biomarcadores no diagnóstico imunohistoquímico do MPM

A falta de biomarcadores precisos para o diagnóstico, prognóstico e previsão da resposta à terapêutica tem sido desafiante. Atualmente o padrão de diagnóstico do MPM consiste na combinação de dois biomarcadores imunohistoquímicos positivos e dois negativos, no caso dos subtipos epitelioide e bifásico. Para o subtipo sarcomatoso, não há biomarcadores específicos, o que dificulta o seu diagnóstico (Panou *et al.*, 2015).

A diferenciação do MPM de outras doenças malignas que podem afetar o pulmão, constitui uma dificuldade. Esta questão é ainda mais desafiante, quando se trata da distinção entre o MPM e o adenocarcinoma pulmonar (Ziegler *et al.*, 2012).

3.1.1- Calretinina

A calretinina é uma proteína de ligação ao cálcio que é expressa nos neurónios. Acredita-se que desempenha um papel chave na transdução somatossensorial (Gotzos *et al.*, 1996). De todos os marcadores, é o mais valioso na diferenciação do MPM do adenocarcinoma pulmonar e da mama, e pode ser usado principalmente no diagnóstico do MPM epitelioide (Panou *et al.*, 2015).

3.1.2- Citoqueratina 5

As citoqueratinas são filamentos intermediários que se localizam no citoplasma de praticamente todas as células epiteliais e subconjunto de células não epiteliais, incluindo as células mesoteliais. São conhecidos mais de 70 subtipos. Este marcador é positivo na grande maioria dos mesoteliomas malignos, cancro das células escamosas, carcinoma da mama do tipo basal, carcinoma seroso e endometrióide do ovário, e negativo principalmente no adenocarcinoma pulmonar e da mama (Panou *et al.*, 2015).

3.1.3- Podoplanina

A podoplanina é uma sialoglicoproteína encontrada principalmente nos podócitos, mas com expressão em vários tecidos normais, entre eles, as células endoteliais linfáticas e o mesotélio. É uma proteína envolvida no desenvolvimento embrionário. A sua expressão em MPM é frequente, ao contrário do que se verifica nos adenocarcinomas da mama e do pulmão. Por esta razão, este marcador desempenha um papel importante na distinção entre adenocarcinomas e MPM. Estudos sugerem que o uso deste marcador no MPM do tipo não epitelióide é limitado (Panou *et al.*, 2015).

3.1.4- Proteína tumoral de Wilms (WT1)

O gene que codifica esta proteína é um supressor tumoral e foi identificado pela sua mutação ou deleção no tumor de Wilms. Além de ser normalmente expressa, tem sido encontrado em níveis elevados em leucemias e cancro da mama (Tsuta *et al.*, 2009). Os doentes com mesotelioma maligno têm apresentado níveis alterados desta proteína. O papel supressor desempenhado pela proteína nuclear WT1 depende da presença de p53; na sua ausência desempenha um papel ativador. A proteína WT1 é um biomarcador com utilidade no diagnóstico diferencial de MPM e adenocarcinoma pulmonar, mas não distingue MPM de adenocarcinoma da mama.

Além destes marcadores, um conjunto de outros marcadores imunohistoquímicos para diferenciar mesotelioma de adenocarcinoma têm sido identificados. Entre eles, destacam-se o antigénio da membrana epitelial, trombosmodulina, N-caderina, mesotelina, vimentina e antigénio HBME-I. Estes marcadores apresentam uma sensibilidade e/ou especificidade menor, comparativamente aos mencionados anteriormente (Panou *et al.*, 2015).

Um estudo baseado numa abordagem proteo-transcriptómica identificou Thy-1/CD90

e teneurina-2 como candidatos a marcadores para diferenciar MPM e adenocarcinoma (Ziegler *et al.*, 2012).

3.2- Biomarcadores nos fluídos biológicos

3.2.1- Fibulina-3

A fibulina-3 é uma glicoproteína extracelular, altamente conservada, que pertence à família da fibulina.

É codificada pelo fator de crescimento epidérmico contendo EFEMPI (*fibulin-like extracellular matrix protein 1*), cuja expressão é baixa nos tecidos normais (Pass *et al.*, 2012; Panou *et al.*, 2015).

Pass *et al.* quantificou fibulina-3 no plasma de doentes com MPM, indivíduos expostos a asbestos, mas que não desenvolveram cancro, doentes com efusões não-MPM, efusões malignas não-MPM, efusões benignas, efusões de doentes com MPM e de indivíduos saudáveis. A expressão de EFEMPI foi elevada em todos os tumores de MPM. Os níveis plasmáticos de fibulina-3 podem distinguir os indivíduos saudáveis com exposição dos doentes com MPM. A concentração plasmática reduziu com a cirurgia e aumentou com a progressão do MPM (Pass *et al.*, 2012; Panou *et al.*, 2015).

3.2.2- Hialuronato

O hialuronato é um polissacarídeo extracelular presente no tecido conectivo. Foi o primeiro marcador sérico proposto para o diagnóstico do MPM e, desde muito cedo foram descritos níveis elevados deste polissacarídeo em efusões pleurais de doentes com tumores pleurais (Pantazopoulos *et al.*, 2013; Panou *et al.*, 2015).

Estudos demonstraram que os níveis séricos de hialuronato não são úteis para o diagnóstico do MPM, uma vez que podem ser confundidos com a doença hepática. Em combinação com a mesotelina, os seus níveis pleurais demonstraram um bom valor diagnóstico, independentemente do subtipo histopatológico (Creaney *et al.*, 2013).

3.2.3- Mesotelina solúvel/soluble mesothelin-related peptides (SMRP)

A mesotelina é uma glicoproteína presente na superfície celular, cuja expressão é elevada em vários tumores, entre eles, adenocarcinomas pancreático e do ovário, sarcomas e MPM. Esta glicoproteína é expressa em células mesoteliais normais (Scherpereel *et al.*, 2006). São conhecidas três isoformas (variantes 1, 2 e 3), denominadas SMRPs. Embora as três isoformas possam ser encontradas na corrente sanguínea, a variante 1 é aquela que é

predominante (Pantazopoulos *et al.*, 2013). A clivagem proteolítica desta proteína dá origem a dois fragmentos: C-ERC/mesotelina ligado à célula e fator potenciador de megacariócito ou N-ERC/mesotelina que é o fragmento solúvel. A capacidade de diagnóstico de ambos é similar, embora a sensibilidade e a especificidade sejam moderadas para o MPM.

O fragmento solúvel da mesotelina é também proposto como marcador preditivo para fazer a monitorização da resposta à quimioterapia (Mundt *et al.*, 2014).

O ensaio *kit* Mesomark™ permite a quantificação da variante 1 e 3 da mesotelina no soro e no fluido pleural, com base num teste ELISA em formato *sandwich*. Este ensaio não foi aprovado para uso no diagnóstico, mas sim na monitorização dos subtipos epitelioide e bifásico (Pantazopoulos *et al.*, 2013).

Estudos demonstram que doentes com MPM epitelioide ou bifásico, em estado avançado apresentam níveis mais elevados de SMRPs do que num estado precoce, o que poderá ser um reflexo da carga tumoral. No fluido pleural, este marcador apresenta-se em níveis mais elevados no subtipo epitelioide, comparativamente a bifásico e sarcomatoso. Fatores como o grau da disfunção renal, que pode ser consequência da quimioterapia, e o polimorfismo genético podem afetar os níveis de mesotelina (Pantazopoulos *et al.*, 2013).

3.2.4- Osteopontina (OPN)

A osteopontina é uma proteína extracelular de adesão celular ligada à formação da matriz óssea não-mineral, mas também com função chave na resposta imune do tipo I (Grigoriu *et al.*, 2007). Esta glicoproteína tem implicações em vias de sinalização ligadas à carcinogénese induzida por fibras de asbestos. Os seus níveis séricos são mais elevados em indivíduos com MPM do que aqueles saudáveis que foram expostos às fibras de asbestos, sendo muito útil na distinção entre os dois grupos. O seu nível médio não varia com as características histológicas, ao contrário da mesotelina, e pode identificar doentes com o subtipo sarcomatoso e bifásico. A sua utilidade como marcador de diagnóstico é limitada devido à baixa especificidade, no entanto, combinada com SMRP pode aumentar a sensibilidade e a especificidade no diagnóstico de MPM (Pantazopoulos *et al.*, 2013; Panou *et al.*, 2015). Ambos são valiosos como potenciais marcadores prognósticos (Grigoriu *et al.*, 2007).

Embora em menor extensão do que a mesotelina, a concentração de OPN também é influenciada pela disfunção renal, o que representa uma limitação (Pantazopoulos *et al.*, 2013).

3.2.5- MicroRNA (miRNA)

MicroRNA é uma classe de pequenos RNA (19 a 25 nucleótidos) não codificante que regula a expressão de cerca de 30% dos genes humanos. Estão implicados em muitos processos celulares como o desenvolvimento, a diferenciação, a proliferação, a apoptose e a resposta ao *stress*.

Algumas características como a especificidade tecidual e a estabilidade em circulação fazem dos miRNAs potenciais biomarcadores para o diagnóstico e prognóstico do MPM (Panou *et al.*, 2015). Dois fatores contribuem para a estabilidade dos miRNA em circulação: cerca de 90% estão protegidos das RNases por proteínas chamadas AGO2 e as restantes 10% encontram-se em microvesículas ou exossomas (Arroyo *et al.*, 2011).

A expressão diferencial de microRNA tem sido identificada ultimamente em linhas celulares do MPM. O hsa-miR-29c é um microRNA que no caso do subtipo epitelioide tem a capacidade de prever o tempo de progressão e OS (*Overall Survival*). Destaca-se ainda o miR-625-3p, miR-17-92 e seus parálogos como marcadores de diagnóstico, por estarem em níveis aumentados no MPM. O miR-126 encontra-se diminuído e, em associação com SMRP pode diferenciar os indivíduos expostos a asbestos daqueles que desenvolveram a doença (Panou *et al.*, 2015).

3.2.6- RNA não codificantes de longa cadeia (lncRNAs)

lncRNAs são um grupo de RNA não codificante, constituídos por mais de 200 nucleótidos. Estão envolvidos numa variedade de funções moleculares, como a regulação da atividade proteica, a expressão genética, controlo da remodelação da cromatina, modificações das histonas e inibidores de alvos de transcritos de miRNA (Wang e Chang, 2011; Panou *et al.*, 2015).

Tabela 1 seleção de potenciais biomarcadores de diagnóstico, sua localização, sensibilidade e especificidade. Adaptado de Panou *et al.*, 2015.

Biomarcador	Localização	Sensibilidade	Especificidade
Mesotelina/SMRP	Soro, efusão pleural	68-90%	80-95%
Osteopontina	Soro, plasma, fluidos corporais, tecido	58-95%	53-95%
Fibulina-3	Plasma, efusão pleural	22-94%	71-100%
Hialuronato	Efusão pleural, soro	50-56%	98-100%
MicroRNA	Tecido, plasma	63-100%	74-95%
SOMAmers	Plasma	77-96%	91-95%
lncRNA	Tecido	71%	100%

Outras abordagens incluem o uso de SOMAmers (*Slow Off-rate Modified Aptamers*) para o desenvolvimento de ensaios proteômicos e testes relacionados com a taxa de expressão genética. Os SOMAmers são deoxinucleótidos curtos, de cadeia simples que têm a capacidade de se ligar a alvos moleculares. Características como a alta sensibilidade e especificidade, intervalo dinâmico, quantificação precisa e reprodutibilidade tornam esta abordagem vantajosa comparativamente aos tradicionais imunoenaios baseados em anticorpos (Panou *et al.*, 2015).

3.3- Marcadores de suscetibilidade

Estudos de suscetibilidade ao MPM têm demonstrado uma forte associação entre mutações no gene *BAP1* (*BRCA1-associated protein 1*) e o aparecimento de mesotelioma (Røe e Stella, 2015).

Esta proteína parece estar ligada a várias funções, entre elas, a regulação da transcrição, gluconeogênese, *checkpoints* do ciclo celular, regulação da cromatina, transcrição e apoptose. Desempenha um papel relevante na resposta ao dano e como supressor tumoral. O gene *BAP1* localiza-se no cromossoma 3p21, que em 30-60% dos MPM apresenta uma perda ou deleção. Como consequência, ocorre um aumento significativo da incidência e o aparecimento precoce da doença, comparativamente ao resto da população. Esta alteração é também verificada em vários outros tumores malignos (Panou *et al.*, 2015). Estudos demonstraram que esta mutação é mais frequente no MPM do subtipo epitelióide comparativamente ao sarcomatoso e bifásico (Bott *et al.*, 2011; Yoshikawa *et al.*, 2012).

4- Imunoterapia

4.1- A imunoterapia em combinação com terapias citoreduativas

O MPM é frequentemente resistente às terapias ditas convencionais. As evidências clínicas mostraram que a imunoterapia, principalmente a administração intrapleural de INF, anticorpos direcionados para a mesotelina e inibidores *checkpoints* podem permitir o controlo em certos doentes. Apesar da administração de interferão ter potencial terapêutico para o MPM, tem sido abandonada por motivos de toxicidade elevada. O estadio precoce da doença e o subtipo epitelióide são fatores que favorecem esta abordagem.

A imunossupressão devida aos tumores é o maior impedimento às respostas clínicas em estratégias imunoterapêuticas (Wong *et al.*, 2014). Tecidos de MPM apresentam níveis significativos de células Treg (*T regulatory*) e macrófagos M2, que podem ser supressores da

resposta imune adaptativa, comprometendo deste modo a eficácia da imunoterapia. O alcance da imunoterapia pode ser melhorado através da combinação com terapias citoreduativas, criando um microambiente mais propício (Wong *et al.*, 2014).

A irradiação fracionada do tumor aumenta a apresentação de antígenos tumorais e promove um aumento da expressão de moléculas MHC (*Major Histocompatibility Complex*) pela via de sinalização dependente de INF- γ . Além disso, pode levar ao aumento de citocinas/quimiocinas (INF- γ , INF tipo 1 e 2, CXCL16). A quimioterapia e a crioblação promovem a libertação e apresentação de antígenos tumorais. A crioblação, tal como a cirurgia podem diminuir os fatores parácrinos imunossupressores derivados do tumor.

Estes fatores promovem o recrutamento de células Treg, MDSC¹ (*Myeloid-Derived Suppressor Cells*) e/ou macrófagos M2. Tanto a radiação como a quimioterapia podem aumentar a resposta imune ao tumor pela diminuição do número de macrófagos M2 e MDSC (Wong *et al.*, 2014).

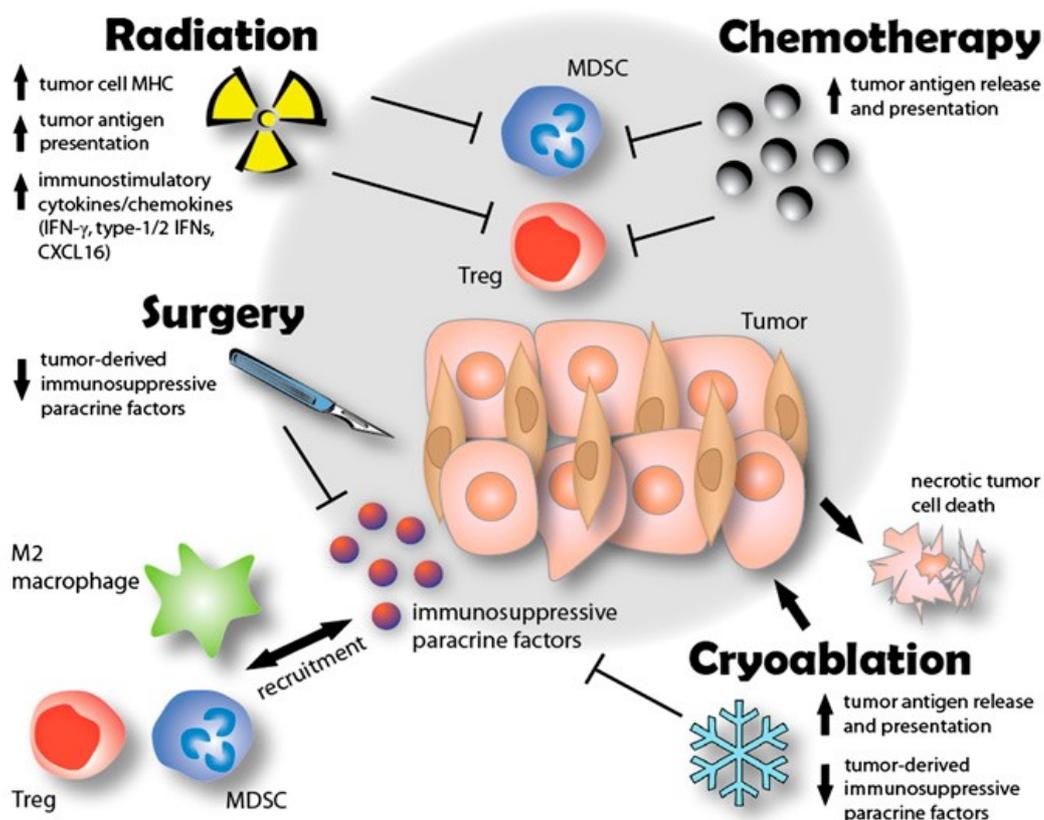


Figura 1: Modulação imune do microambiente do tumor por terapias citoreduativas. Adaptado de Wong *et al.*, 2014.

¹ MDSC é capaz de converter a macrófago M2

4.2- Ensaios clínicos com anticorpos monoclonais

Dos agentes quimioterapêuticos utilizados, destacam-se o pemetrexato, a gencitabina e a cisplatina, todos com uma reduzida eficácia e muitos efeitos secundários. Ensaios clínicos demonstraram que o tratamento com pemetrexato em combinação com a cisplatina apresenta resultados de tempo de sobrevida superiores à monoterapia com cisplatina (Vogelzang *et al.*, 2003).

A descoberta de novos alvos tem conduzido a novas estratégias terapêuticas, com especial destaque à imunoterapia. Algumas destas estratégias terapêuticas consistem no bloqueio de alvos moleculares como a mesotelina, TGF- β (*Transforming Growth Factor beta*), VEGF-A (*Vascular Endothelial Growth Factor A*), EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*) ou CTLA-4 (*Cytotoxic T Lymphocyte-Associated Antigen 4*), por anticorpos monoclonais (Antoniou *et al.*, 2014).

A mesotelina, além de ser um biomarcador muito estudado, é também um alvo de intervenção terapêutica, devido à sua interação com CA125², e também por estar envolvido na progressão e patogénese da doença. Anticorpos antimesotelina foram inicialmente desenvolvidos para o diagnóstico de cancros positivos para a mesotelina, mas dadas as suas funções, estes anticorpos passaram a ser vistos como terapias para o MPM (Antoniou *et al.*, 2014).

A atividade antitumoral do amatuximab (MorAb009), um anticorpo monoclonal quimérico, antimesotelina, foi avaliada num estudo de fase II, envolvendo 89 doentes com MPM não ressecável, em combinação com pemetrexato e cisplatina. O *endpoint* primário avaliado foi PFS (*Progression-Free Survival*) a seis meses. Os outros *endpoints* avaliados foram OS, taxa de resposta e segurança. Ficou demonstrada que o amatuximab combinado com pemetrexato e cisplatina apresenta uma atividade antitumoral superior à quimioterapia isolada. A taxa de PFS foi de 51% após seis meses, a PFS foi de 6,1 meses e a OS foi de 14,8 meses. A taxa de resposta parcial foi de 40%. Apesar deste tratamento ser bem-tolerado, a reação de hipersensibilidade ao amatuximab foi desenvolvida em 12,4% dos doentes (Hassan *et al.*, 2014). Ficou evidenciada uma eficácia promissora do amatuximab no tratamento do MPM (Antoniou *et al.*, 2014).

A descoberta dos *immune checkpoints recetors*, tais como CTLA-4 e PD-1 (*Programmed Death-1*) tem conduzido a novas abordagens na imunoterapia do cancro.

² A CA125 é encarregue pela expansão do tumor

Estas moléculas são encarregues pela inativação e controlo do sistema imune, por forma a impedir a autoimunidade e também prevenir os danos ao nível dos tecidos (Marcq *et al.*, 2015).

O Tremelimumab, um anticorpo monoclonal dirigido ao CTLA-4, foi avaliado num estudo de fase II (ClinicalTrials.gov número NCT01649024) em doentes com MPM em estado avançado e com resistência à quimioterapia. Os resultados deste estudo demonstraram que o Tremelimumab apresenta uma atividade clínica promissora, com perfis de segurança e tolerabilidade aceitáveis. Verificou-se o controlo da doença em 31% dos participantes, um valor médio de PFS de 6,2 meses e OS médio foi de 10,7 meses. Uma conclusão deste estudo, que é também suportada por evidências pré-clínicas, sugere um efeito sinérgico do bloqueio do CTLA-4 com a quimioterapia (Calabrò *et al.*, 2013).

5. Perspetivas Futuras

Estima-se que o pico de incidência do MPM seja atingido na próxima década devido ao longo período de latência após exposição (Vandermeers *et al.*, 2013).

Os biomarcadores atualmente disponíveis não são satisfatórios, no entanto estão a surgir novos, caracterizados por serem não-invasivos, mais sensíveis e específicos. Contudo, antes da aplicação clínica estes biomarcadores devem ser submetidos a estudos de validação prospetiva (Panou *et al.*, 2015).

Avanços no conhecimento dos mecanismos moleculares subjacentes ao MPM permitirão a identificação de novos alvos de intervenção farmacológica (Maggioni *et al.*, 2016).

A imunoterapia tem exibido resultados promissores no tratamento do cancro. Neste âmbito, os *checkpoints inhibitors* são vistos como futuras oportunidades para o MPM (Marcq *et al.*, 2015; Maggioni *et al.*, 2016).

6. Conclusão

Apesar do uso das fibras de asbestos ter sido proibido nos países desenvolvidos, continua a haver aumento da incidência da doença, o que é o reflexo do longo período de latência entre a exposição e o aparecimento da doença.

A identificação e validação de biomarcadores ideais para o diagnóstico precoce e avaliação terapêutica continuam a ser grandes desafios. Muitos estudos indicam que a mesotelina pode ser útil como um adjuvante no diagnóstico, no entanto apresenta algumas limitações como a sua baixa sensibilidade, níveis dependentes do subtipo histológico, do polimorfismo genético e da disfunção renal.

O pemetrexato em combinação com a cisplatina apresentou melhores resultados em quimioterapia, embora com muitos efeitos secundários.

A imunoterapia tem demonstrado resultados promissores, com destaque para o amatumab. Os *checkpoints inhibitors* são também encarados como novas oportunidades para o MPM.

7. Referências Bibliográficas

ARROYO, J. D., CHEVILLETA, J. R., KROH, E. M., RUF, I. K., PRITCHARD, C. C., ... TEWARIA, M. – Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 108:12 (2011) 5003–8.

BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP – Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**. 69:3 (2001) 89-95.

BONONI, A., NAPOLITANO, A., PASS, H. I., YANG, H., CARBONE, M. - Latest developments in our understanding of the pathogenesis of mesothelioma and the design of targeted therapies. **Expert Review of Respiratory Medicine**. 9:5 (2015) 633–654.

BOTT, M., BREVET, M., TAYLOR, B. S., SHIMIZU, S., ITO, T., ... LADANYI, M. - The nuclear deubiquitinase BAP1 is commonly inactivated by somatic mutations and 3p21.1 losses in malignant pleural mesothelioma. **Nature genetics**. 43:7 (2011) 668–672.

CALABRÒ, L., MORRA, A., FONSATTI, E., CUTAIA, O., AMATO, G., ... MAIO, M. - Tremelimumab for patients with chemotherapy-resistant advanced malignant mesothelioma: An open-label, single-arm, phase 2 trial. **The Lancet Oncology**. 14:11 (2013) 1104–1111.

CERCIELLO, F., CHOI, M., NICASTRE, A. BAUSCH-FLUCK, D., ZIEGLER, A., ... WOLLSCHIED, B. - Identification of a seven glycopeptide signature for malignant pleural mesothelioma in human serum by selected reaction monitoring. **Clinical proteomics**. 10:1 (2013) 16.

CREANEY, J., DICK, I. M., SEGAL, A., MUSKA, A. W., ROBINSON B. W. S. - Pleural effusion hyaluronic acid as a prognostic marker in pleural malignant mesothelioma. **Lung Cancer**. 82:3 (2013) 491–498.

CREANEY, J.; DICK, I. M.; ROBINSON, B. W. S. - Discovery of new biomarkers for malignant mesothelioma. **Current Pulmonology Reports**. 4:1 (2015) 15–21.

DAVIDSON, B. - Prognostic factors in malignant pleural mesothelioma. **Human Pathology**. 46:6 (2015) 789–804.

GIUSTI, L., CIREGIA, F., BONOTTI, A., VALLE, Y. D., DONADIO, E., ... LUCACCHINI, A.
- Comparative proteomic analysis of malignant pleural mesothelioma: Focusing on the biphasic subtype. **EuPA Open Proteomics**. 10 (2014) 42–49.

GOTZOS, V.; VOGT, P.; CELIO, M. R. - The calcium binding protein calretinin is a selective marker for malignant pleural mesotheliomas of the epithelial type. **Pathology, research and practice**. 192:2 (1996) 137–47.

GRIGORIU, B. D., SCHERPEREEL, A., DEVOS, P., CHAHINE, B., LETOURNEUX, M., ..., LASSALLE, P. - Utility of osteopontin and serum mesothelin in malignant pleural mesothelioma diagnosis and prognosis assessment. **Clinical Cancer Research**, 13:10 (2007) 2928–2935.

HASSAN, R., KINDLER, H. L., JAHAN, T., BAZHENOVA, L., RECK, M., ..., WALLIN, B. A.
- Phase II clinical trial of amatuximab, a chimeric antimesothelin antibody with pemetrexed and cisplatin in advanced unresectable pleural mesothelioma. **Clinical Cancer Research**. 20:23 (2014) 5927–5936.

LIU, H., WU, L., JI, K., WANG, W. - Prognostic value of several biomarkers for the patients with malignant pleural mesothelioma. **Tumor Biology**. 36:10 (2015) 7375–7384.

MAGGIONI, C., BARLETTA, G., RIJAVEC, E., BIELLO, F., GUALCO, E., FROSSI, F. - Advances in treatment of mesothelioma. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**. 17:9 (2016) 1197–1205.

MARCQ, E., PAUWELS, P., MEERBEECK, J. P. V., SMITS, E. L. J. - Targeting immune checkpoints: New opportunity for mesothelioma treatment? **Cancer Treatment Reviews**. 41:10 (2015) 914–924.

MUNDT, F., JOHANSSON, H. J., FORSHED, J., ARSLAN, S., METINTAS, M., ... HJERPE, A.
- Proteome screening of pleural effusions identifies galectin I as a diagnostic biomarker and highlights several prognostic biomarkers for malignant mesothelioma. **Molecular & cellular proteomics : MCP**. 13:3 (2014) 701–15.

PANOU, V., VYBERG, M., WEINREICH, U. M., MERISTOUDIS, C., FALKMER, U. G., RØE, O. D. - The established and future biomarkers of malignant pleural mesothelioma. **Cancer Treatment Reviews**. 41:6 (2015) 486–495

PANTAZOPOULOS, I., BOURA, P., XANTHOS, T., SYRIGOS, K. - Effectiveness of mesothelin family proteins and osteopontin for malignant mesothelioma. **European Respiratory Journal**. 41:3 (2013) 706–715.

PASS, H. I., LEVIN, S. M., HARBUT, M. R., MELAMED, J., CHIRIBOGA, L., ... GOPARAJU, C. - Fibulin-3 as a Blood and Effusion Biomarker for Pleural Mesothelioma. **New England Journal of Medicine**. 367:15 (2012) 1417–1427.

RØE, O. D., STELLA, G. M. - Malignant pleural mesothelioma: History, controversy and future of a manmade epidemic. **European Respiratory Review**. 24:135 (2015) 115–131.

SCHERPEREEL, A., GRIGORIU, B., CONTI, M., GEY, T., GRÉGOIRE, M., ... LASSALLE, P. - Soluble mesothelin-related peptides in the diagnosis of malignant pleural mesothelioma. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**. 173:10 (2006) 1155–1160.

SEKIDO, Y., - Molecular pathogenesis of malignant mesothelioma. **Carcinogenesis**. 34:7 (2013) 1413–1419.

TSUTA, K., KATO, Y., TOCHIGI, N., HOSHINO, T., TAKEDA, Y., ...Matsuno Y. - Comparison of different clones (WT49 versus 6F-H2) of WT-antibodies for immunohistochemical diagnosis of malignant pleural mesothelioma. **Applied immunohistochemistry & molecular morphology: AIMM / official publication of the Society for Applied Immunohistochemistry**. 17:2 (2009) 126–30.

VANDERMEERS, F., SRIRAMAREDDY, S. N., COSTA, C., HUBAUX, R., COSSE, J., WILLEMS, L. - The role of epigenetics in malignant pleural mesothelioma. **Lung Cancer**. 81:3 (2013) 311–318.

VOGELZANG, N. J., RUSTHOVEN, J. J., SYMANOWSKI, J., DENHAM, C., KAUKEL, E., ...PAOLETTI, P. - Phase III study of pemetrexed in combination with cisplatin versus cisplatin alone in patients with malignant pleural mesothelioma. **Journal of Clinical Oncology**. 21:14 (2003) 2636–2644.

WANG, K. C., CHANG, H. Y. - Molecular Mechanisms of Long Noncoding RNAs. **Molecular Cell**. 43:6 (2011) 904–914.

WONG, R. M., IANCULESCU, I., SHARMA, S., GAGE, D. L., OLEVSKY, O. M., CAMERON, R. B. - Immunotherapy for malignant pleural mesothelioma current status and future prospects. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**. 50:5 (2014) 870–875.

YOSHIKAWA, Y., SATO, A., TSUJIMURA, T., EMI, M., MORINAGA, T., ... TOMAOKI, T. H. - Frequent inactivation of the BAP1 gene in epithelioid-type malignant mesothelioma. **Cancer Science**. 103:5 (2012) 868–874.

ZIEGLER, A., CERCIELLOA, F., BIGOSCHA, C., FLUCK, D. B., BOSCOA, E. F., ... WOLLSCHIED, B. - Proteomic surfaceome analysis of mesothelioma. **Lung Cancer**. 75:2 (2012) 189–196.