UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Natália Maria Ferreira Gonçalves

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada "As plaquetas como uma abordagem promissora no diagnóstico e na terapêutica do cancro", referentes à Unidade Curricular "Estágio", sob orientação da Dra. Clementina Varela, do Dr. Paulo Monteiro e do Professor Doutor João Nuno Sereno de Almeida Moreira, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2020

UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Natália Maria Ferreira Gonçalves

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada "As plaquetas como uma abordagem promissora no diagnóstico e na terapêutica do cancro", referentes à Unidade Curricular "Estágio", sob orientação da Dra. Clementina Varela, do Dr. Paulo Monteiro e do Professor Doutor João Nuno Sereno de Almeida Moreira apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2020

Eu, Natália Maria Ferreira Gonçalves, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2013133077, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo dos Documentos Relatórios de Estágio e Monografia intitulada "As plaquetas como uma abordagem promissora no diagnóstico e na terapêutica do 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, 18 de setembro de 2020.

Natália Maria Ferreira Gonçalves

(Natália Maria Ferreira Gonçalves)

AGRADECIMENTOS

Aos meus **Pais**, pelo apoio incondicional em todas as etapas e escolhas do meu percurso, independentemente das adversidades do dia-a-dia.

Aos meus **Amigos**, os de sempre e para sempre, pela cumplicidade e paciência em lidar com os meus devaneios e pessimismo.

Ao **Professor Doutor João Nuno Moreira**, pela compreensão, confiança e orientação da monografia.

À **Dra. Clementina Varela**, **Dra. Andreia Gonçalves** e à restante equipa dos Serviços Farmacêuticos do Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gentil, E.P.E., pela amabilidade, disponibilidade prestada e constante partilha de conhecimento.

Ao **Dr. Paulo Monteiro** e a toda a equipa técnica da Farmácia São José, pelo acolhimento, dedicação e profissionalismo.

E a ti, **Coimbra**, pelo crescimento pessoal e pelas amizades que me proporcionaste.

Muito Obrigada!

ÍNDICE

PARTE I: RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FÁRMÁCIA HOSPITALAR

ABREVIATURAS 8

1. INTRODUÇÃO 9

2. SERVIÇOS FARMACÊUTICOS DO IPOCFG, E.P.E. 9

3. GESTÃO DE MEDICAMENTOS E PRODUTOS FARMACÊUTICOS 10

3.1. RECEÇÃO 10

3.2. ARMAZENAMENTO 10

4. DISTRIBUIÇÃO E DISPENSA DE MEDICAMENTOS E PRODUTOS FARMACÊUTICOS 11

4.1. DISTRIBUIÇÃO TRADICIONAL OU CLÁSSICA 11

4.2. DISTRIBUIÇÃO INDIVIDUAL DIÁRIA EM DOSE UNITÁRIA 11

4.3. DISTRIBUIÇÃO EM REGIME DE AMBULATÓRIO 12

5. FARMACOTECNIA 12

5.1. PREPARAÇÃO DE FORMAS GALÉNICAS NÃO ESTÉREIS 12

5.2. PREPARAÇÃO DE SOLUÇÕES INJETÁVEIS DE CITOTÓXICOS 13

5.3. REEMBALAGEM DE MEDICAMENTOS 14

6. ANÁLISE SWOT 14

6.1. PONTOS FORTES *(Strengths)* 14

6.1.1. EQUIPA TÉCNICA 14

6.1.2. PLANO DE ESTÁGIO 14

6.1.3. INTERAÇÃO COM O DOENTE ONCOLÓGICO 15

6.2. PONTOS FRACOS *(Weaknesses)* 15

6.2.1. DURAÇÃO DO ESTÁGIO 15

6.2.2. ESTÁGIO OBSERVACIONAL 15

6.2.3. TERAPÊUTICA POUCO DIVERSIFICADA 15

6.3. OPORTUNIDADES *(Opportunities)* 16

6.3.1. VISITA MÉDICA 16

6.3.2. COLABORAÇÃO EM PROJETOS 16

6.3.3. PREPARAÇÃO DE SOLUÇÕES INJETÁVEIS DE CITOTÓXICOS 16

6.3.4. ENRIQUECIMENTO DOS CONHECIMENTOS DO FORO ONCOLÓGICO 17

6.4. AMEAÇAS *(Threats)* 17

6.4.1. DESVALORIZAÇÃO DA PROFISSÃO FARMACÊUTICA 17

7. CONCLUSÃO 18

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 19

9. ANEXOS 20

PARTE II: RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

ABREVIATURAS 26

1. INTRODUÇÃO 27

2. FARMÁCIA SÃO JOSÉ 27

3. ANÁLISE SWOT 28

3.1. PONTOS FORTES *(Strengths)* 28

3.1.1. EQUIPA TÉCNICA 28

3.1.2. DIVERSIDADE DOS PRODUTOS FARMACÊUTICOS 28

3.1.3. DIVERSIDADE DAS FUNÇÕES DESEMPENHADAS 28

3.1.3.1. Atividades de *Back Office* 29

3.1.3.1.1. Gestão de *stocks* 29

3.1.3.1.1.1. Aquisição, Receção e Armazenamento de medicamentos e produtos farmacêuticos 29

3.1.3.1.1.2. Gestão e Regularização de devoluções 30

3.1.3.1.2. Conferência de Receituário e Faturação 30

3.1.3.2. Atividades de *Front Office* 31

3.1.3.2.1. Dispensa de medicamentos e produtos farmacêuticos 31

3.1.3.2.2. Preparação de Medicamentos Manipulados 32

3.1.3.2.3. Monitorização de parâmetros bioquímicos e/ou fisiológicos 33

3.2. PONTOS FRACOS *(Weaknesses)* 33

3.2.1. NÚMERO DE ESTAGIÁRIOS 33

3.2.2. PLANO DE ESTÁGIO 34

3.2.3. HOMOGENEIDADE DOS CLIENTES 34

3.2.4. RESERVA DOS UTENTES AO ATENDIMENTO POR ESTAGIÁRIOS 34

3.3. OPORTUNIDADES *(Opportunities)* 35

3.3.1. VALORIZAÇÃO DA PROFISSÃO EM CONTEXTO PANDÉMICO 35

3.3.2. FORMAÇÕES EXTERNAS 36

3.3.3. IMPLEMENTAÇÃO DO PROJETO KAIZEN 36

3.4. AMEAÇAS *(Threats)* 37

3.4.1. DESVALORIZAÇÃO DO MEDICAMENTO 37

3.4.2. RUTURA DE *STOCKS* DE MEDICAMENTOS 37

4. CASOS PRÁTICOS 38

5. CONCLUSÃO 39

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 40

7. ANEXOS 42

PARTE III: MONOGRAFIA: "AS PLAQUETAS COMO UMA ABORDAGEM PROMISSORA NO DIAGNÓSTICO E NA TERAPÊUTICA DO CANCRO"

RESUMO 44

ABSTRACT 45

ABREVIATURAS 46

1. INTRODUÇÃO 47

2. PLAQUETAS 47

2.1. PRODUÇÃO DAS PLAQUETAS 48

2.2. ESTRUTURA DAS PLAQUETAS 48

2.3. FUNÇÕES DAS PLAQUETAS 49

3. RELAÇÃO CANCRO - PLAQUETAS 50

4. PLAQUETAS NO DIAGNÓSTICO DO CANCRO 51

5. PLAQUETAS NA TERAPÊUTICA DO CANCRO 54

5.1. PLAQUETAS COMO SISTEMAS DE ENTREGA DIRIGIDA DE FÁRMACOS 55

5.1.1. ENGENHARIA CELULAR 55

5.1.1.1. Ligação de fármacos na superfície das plaquetas 56

5.1.1.2. Encapsulação de fármacos no citoplasma das plaquetas 58

5.1.2. NANOPARTÍCULAS REVESTIDAS POR MEMBRANA CITOPLASMÁTICA DE PLAQUETAS 63

5.2. PLAQUETAS COMO SISTEMAS DE ENTREGA DIRIGIDA DE ÁCIDOS NUCLEICOS 66

5.3. PLAQUETAS NA MONITORIZAÇÃO DA TERAPÊUTICA 68

6. CONCLUSÃO E PERSPETIVAS FUTURAS 69

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 71

PARTE I

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA HOSPITALAR

Serviços Farmacêuticos do Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gentil, E.P.E.

Janeiro – Fevereiro 2020

ABREVIATURAS

AO	Assistente Operacional
DA	Distribuição a doentes em regime de Ambulatório
DIDDU	Distribuição Individual Diária em Dose Unitária
DT	Distribuição Tradicional
GHAF	Gestão Hospitalar de Armazém e Farmácia
IPOCFG, E.P.E.	Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gentil, E.P.E.
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
SWOT	*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*
TDT	Técnico de Diagnóstico e Terapêutica
UPC	Unidade de Preparação de Citotóxicos

1. INTRODUÇÃO

O plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra integra a unidade curricular "Estágio", que visa a aplicação dos conhecimentos técnicos e científicos, adquiridos ao longo da formação académica, à realidade profissional.

Ciente da importância do farmacêutico no contexto hospitalar, ao assumir um papel interventivo, em articulação com outros profissionais de saúde, na aquisição e na gestão dos medicamentos e produtos farmacêuticos, bem como na sua preparação e distribuição aos doentes da instituição [1], optei por estagiar nesta área profissional, a Farmácia Hospitalar, para além do estágio, de carácter obrigatório, em Farmácia Comunitária.

O estágio decorreu nos serviços farmacêuticos do Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gentil, E.P.E. (IPOCFG, E.P.E.), sob a orientação da Dra. Clementina Varela, de 6 de janeiro a 28 de fevereiro de 2020, perfazendo um total de 280 horas.

No presente relatório descrevo, sucintamente, a dinâmica das diferentes atividades em que participei e identifico, após uma reflexão crítica e retrospetiva, os pontos mais relevantes desta jornada curricular, de uma forma estruturada, de acordo com o modelo de análise SWOT *(Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats)*.

2. SERVIÇOS FARMACÊUTICOS DO IPOCFG, E.P.E.

Os serviços farmacêuticos, departamentos com autonomia técnica e científica [2], constituem um dos "serviços e unidades de suporte à prestação de cuidados de saúde" do IPOCFG, E.P.E., uma instituição de topo na rede de referenciação hospitalar em oncologia (plataforma de tipo A) [3]. Compete-lhes a seleção, aquisição, receção, armazenamento, preparação e distribuição de medicamentos e produtos farmacêuticos; garantir a boa utilização e vigilância do medicamento; participar em comissões técnicas multidisciplinares; colaborar na investigação científica, através da monitorização de ensaios clínicos autorizados na instituição e cooperar no ensino das ciências farmacêuticas, mediante a orientação de estagiários [4].

Os serviços farmacêuticos do IPOCFG, E.P.E. localizam-se no piso 1 do edifício dos Cuidados Paliativos e integram uma equipa multidisciplinar de vinte e quatro colaboradores, dez dos quais são farmacêuticos. Dada à diversidade e complexidade das funções dos SF (a

seguir descritas) convencionou-se a partilha e a atribuição de responsabilidades específicas em várias áreas de atividade a algumas das farmacêuticas.

3. GESTÃO DE MEDICAMENTOS E PRODUTOS FARMACÊUTICOS

3.1. RECEÇÃO

Os medicamentos e produtos farmacêuticos após um processo burocrático e complexo de seleção e aquisição são rececionados por um farmacêutico ou um técnico de diagnóstico e terapêutica (TDT) nos serviços farmacêuticos. A receção implica a verificação da conformidade da guia de remessa/fatura com a nota de encomenda; a conferência qualitativa e quantitativa dos bens e a verificação das condições de armazenamento/estado geral da encomenda. A guia de remessa/fatura assinada, datada e carimbada pelo colaborador segue, numa primeira fase para o administrativo do serviço, que garante a entrada dos artigos no *stock* real da farmácia e, posteriormente, para o serviço de aprovisionamento, encarregue pelos pagamentos [5]. Mediante uma irregularidade**,** os produtos são segregados em quarentena descrevendo o motivo e a não conformidade é comunicada à farmacêutica responsável pelo setor.

3.2. ARMAZENAMENTO

Após a receção segue-se o armazenamento dos produtos, respeitando as exigências técnicas e/ou regulamentares. Para o efeito o IPOCFG, E.P.E. dispõe para além do armazém geral, que alberga a maioria dos medicamentos e produtos farmacêuticos, o armazém dos inflamáveis (piso 0), o armazém dos gases medicinais (edifício da radioterapia) e o armazém de soros/injetáveis de grande volume (piso -1). Os artigos são rotulados com uma etiqueta *(*Anexo 1*)*, de cor variável consoante a via de administração/ tipo de fármaco [5] e redigida em conformidade com as indicações de gestão do risco clínico para medicamentos LASA *(Look-Alike, Sound Alike)* [6]; organizados por ordem alfabética da designação comum internacional (DCI) e dispostos de forma a garantir um rotação adequada dos *stocks*, segundo o princípio "*first in, first out*" [5].

4. DISTRIBUIÇÃO E DISPENSA DE MEDICAMENTOS E PRODUTOS FARMACÊUTICOS

4.1. DISTRIBUIÇÃO TRADICIONAL OU CLÁSSICA

A distribuição tradicional ou clássica (DT) consiste na reposição de *stocks* nivelados de medicamentos e produtos farmacêuticos armazenados nos serviços clínicos do hospital [7].

O circuito de DT inicia-se com uma requisição (Anexo II) de um determinado serviço, normalmente, elaborada pelo enfermeiro chefe a partir da aplicação informática GHAF 2010® (Gestão Hospitalar de Armazém e Farmácia) tendo em consideração as existências e os níveis de *stock* pré-estabelecidos. Posteriormente, o pedido é aviado por um TDT, conferido (de preferência por um TDT diferente do primeiro), acondicionado de modo seguro e cedido a um assistente operacional (AO) do serviço requisitante. Tanto o TDT que forneceu como o AO que recebeu são obrigados a assinar e a datar a respetiva requisição.

O processo termina com a gestão dos *stocks*, através da qual as quantidades enviadas são abatidas ao *stock* da farmácia e imputadas aos centros de custo dos serviços clínicos [5]. Esta tarefa efetua-se, regra geral, no dia seguinte à data de satisfação do pedido, por um TDT, o qual deve assinar e datar a respetiva requisição.

4.2. DISTRIBUIÇÃO INDIVIDUAL DIÁRIA EM DOSE UNITÁRIA

A distribuição individual diária em dose unitária (DIDDU) compreende a dispensa da dose prescrita para cada toma do medicamento, numa embalagem individual devidamente identificada, para um período de 24 horas [7].

O processo inicia-se com uma prescrição médica no GHAF 2010®, validada, obrigatoriamente, por um farmacêutico. A partir das prescrições validadas são gerados mapas terapêuticos (Anexo III), os quais auxiliam os TDTs a preparar a medicação a dispensar. No IPOCFG, E.P.E. o processo é totalmente manual: dois TDTs organizam a terapêutica em gavetas individuais e fazem a conferência cruzada entre eles.

A dispensa para os serviços clínicos é efetuada em módulos móveis constituídos pelas gavetas dos doentes aí internados. Diariamente um AO do serviço troca o módulo preparado pelo módulo das 24h anteriores, fluxo esse que permite o registo das revertências no GHAF 2010®, isto é, o registo da medicação que não foi administrada por

motivos de alta, recusa ou morte dos doentes. Os produtos em causa são sujeitos a um processo de triagem pelos TDTs, com base em critérios de aceitabilidade, para que possam entrar novamente no circuito do medicamento, numa ótica de redução do desperdício [7].

Recomenda-se que haja o registo da hora e a rubrica do AO que receciona, assim como dos TDTs intervenientes, para prossecução da política de qualidade.

4.3. DISTRIBUIÇÃO EM REGIME DE AMBULATÓRIO

A distribuição em regime de ambulatório (DA) visa a dispensa de determinados medicamentos, a título gratuito, aos doentes da instituição em regime de ambulatório [7].

A dispensa dos medicamentos é efetuada, exclusivamente, por farmacêuticos mediante a apresentação da receita médica (Anexo IV) pelo doente, ou outra pessoa em seu nome e, posterior, validação.

No ato de dispensa o farmacêutico fomenta o uso correto do medicamento pela divulgação de informação verbal e escrita - através de folhetos informativos simples e compreensíveis elaborados internamente (Anexo V).

A receita médica para além de ser assinada pelo médico prescritor também o deve ser pelo farmacêutico e pelo doente, ou seu representante, como comprovativo da dispensa dos medicamentos.

5. FARMACOTECNIA

No IPOCFG, E.P.E. o setor da farmacotecnia subdivide-se na preparação de formas galénicas não estéreis; na preparação de soluções injetáveis de citotóxicos e no acondicionamento de medicamentos em dose unitária (reembalagem), garantindo a produção de preparações, seguras, eficazes e com qualidade, indisponíveis no mercado farmacêutico [8].

5.1. PREPARAÇÃO DE FORMAS GALÉNICAS NÃO ESTÉREIS

Mediante um pedido de um dos serviços clínicos efetua-se a preparação de formas galénicas não estéreis por um TDT, em conformidade com protocolos definidos (Anexo VI) e com recurso a matérias-primas certificadas pelo seu boletim de análise. Posteriormente, o farmacêutico valida a preparação com base nos ensaios de qualidade definidos no respetivo protocolo.

Durante o processo é preenchida uma ficha de preparação (Anexo VI) em que se identifica o produto acabado assim como as matérias-primas e o equipamento utilizado, a qual deve ser assinada e datada, pelo TDT e farmacêutico responsável, e arquivada. O produto é rotulado, registado no sistema GHAF 2010® e dispensado para o serviço requisitante.

5.2. PREPARAÇÃO DE SOLUÇÕES INJETÁVEIS DE CITOTÓXICOS

A preparação de soluções injetáveis de citotóxicos para os tratamentos de quimioterapia efetua-se na Unidade de Preparação de Citotóxicos (UPC). A unidade é constituída por duas áreas de produção (salas limpas com câmaras de segurança biológica e respetivas antecâmeras); uma sala de apoio; um armazém avançado, cuja reposição segue o procedimento da DT mencionado no ponto 4.1.; e usufrui de um *software* específico, o Farmis_Oncofarm®.

O circuito inicia-se com uma prescrição médica eletrónica, com base nos protocolos aprovados pela comissão de farmácia e terapêutica local. Posteriormente, o farmacêutico analisa e valida a prescrição, por forma a garantir que a terapêutica instituída se ajusta às características fisiopatológicas do doente, e imprime as etiquetas de cada mistura, anexando-as às folhas de preparação (Anexo VII).

Todo o material necessário é desinfetado com álcool etílico a 70%, colocado em tabuleiros de aço inoxidável por um AO na sala de apoio e enviado para a sala limpa, por intermédio de um *pass box*.

A preparação dos citotóxicos efetua-se por TDTs em câmaras de segurança biológica, garantindo os requisitos de assepsia. Finda esta tarefa, o farmacêutico controla a qualidade das preparações e valida-as – idealmente a conferência deve ser cruzada, sempre que estão dois farmacêuticos na unidade. Por fim, as preparações são devidamente acondicionadas e enviadas para o serviço clínico pelo AO. Todas as folhas de preparação são rubricadas pelo farmacêutico e TDTs responsáveis e arquivadas.

De realçar que todos os colaboradores que desempenham funções na UPC utilizam equipamentos de proteção individual, minimizando a sua exposição aos citotóxicos, por inalação ou contacto direto com a pele, mucosas e olhos [9].

5.3. REEMBALAGEM DE MEDICAMENTOS

No IPOCFG, E.P.E. a reembalagem dos medicamentos com substâncias ativas não citotóxicas procede-se em simultâneo com a rotulagem, num equipamento semi-automático *Auto-Print Grifols*® (Anexo VIII). Um AO é responsável pela operação, sujeito a uma prévia supervisão de um TDT que confirma o medicamento a reembalar e confere os dados que vão constar na rotulagem. Findo o processo, um farmacêutico é responsável pela libertação do lote, mediante o controlo da qualidade do lote produzido que inclui a verificação da proteção do medicamento (integridade da embalagem) e a análise do rótulo. Todas as operações de reembalagem são documentadas, tanto pelo AO como pelo farmacêutico, em registos diferentes.

A reembalagem de medicamentos citotóxicos orais tem a particularidade de ser realizada na UPC, numa das salas limpas numa câmara de segurança biológica, por um TDT.

6. ANÁLISE SWOT

6.1. PONTOS FORTES *(Strengths)*

6.1.1. EQUIPA TÉCNICA

Desde o primeiro dia, todos os profissionais (farmacêuticos, TDTs e AOs) mostraram-se disponíveis para a transmissão de conhecimentos e para o esclarecimento de qualquer dúvida. Também, depositaram em mim autonomia para executar as tarefas atribuídas, incutindo-me um sentido de responsabilidade.

Este espírito de interajuda e a confiança da equipa técnica proporcionou-me um ambiente de trabalho familiar, o que foi, sem dúvida, um ponto forte no desenrolar desta experiência.

6.1.2. PLANO DE ESTÁGIO

A planificação do estágio, com a definição prévia das atividades a desempenhar e as competências a adquirir em cada uma delas, foi um ponto forte do estágio.

Segundo um plano lógico e estruturado percorri os vários setores dos serviços farmacêuticos (exceto a Radiofarmácia e os Ensaios Clínicos) permitindo-me conhecer e compreender, em termos gerais, o circuito do medicamento e dos produtos farmacêuticos em meio hospitalar: seleção, aquisição, receção, armazenamento, prepararão e distribuição pelos diferentes sistemas (DA, DIDDU e DT).

6.1.3. INTERAÇÃO COM O DOENTE ONCOLÓGICO

O IPOPFG, E.P.E. sendo uma unidade de prestação de cuidados de saúde diferenciados na área da oncologia permitiu-me, durante o período de estágio, confrontar com uma realidade diferente mas cada vez mais prevalente na sociedade - o cancro.

O doente oncológico é um doente particular do ponto de vista físico, psicológico e social, requer uma atenção especial do farmacêutico com o qual interage. Assim, considero que o contacto que estabeleci com os diferentes utentes, no ambulatório, foi uma mais-valia para o meu crescimento pessoal e, por conseguinte, profissional.

6.2. PONTOS FRACOS *(Weaknesses)*

6.2.1. DURAÇÃO DO ESTÁGIO

A curta duração do estágio, de apenas oito semanas, limitou o acesso a alguns setores dos serviços farmacêuticos, nomeadamente da Radiofarmácia e dos Ensaios Clínicos. Por esta razão aponto a duração do estágio como um ponto fraco, uma vez que não foi suficiente para conhecer e intervir nestas áreas mais recentes da atividade farmacêutica, que são para mim ainda muito abstratas.

6.2.2. ESTÁGIO OBSERVACIONAL

Apesar das múltiplas atividades realizadas autonomamente, o estágio assumiu, maioritariamente, um carácter observacional - sobretudo, nas atividades da responsabilidade do farmacêutico.

De entre todos os setores, senti um papel menos ativo ao nível da DIDDU e UPC, onde a intervenção do farmacêutico se centra na validação da prescrição médica. Ainda que consciente da responsabilidade desta operação e de que a componente teórica, à semelhança da componente prática, seja necessária para o processo de aprendizagem, o papel pouco ativo nas funções do farmacêutico foi um ponto negativo do estágio.

6.2.3. TERAPÊUTICA POUCO DIVERSIFICADA

O IPOCFG, E.P.E. sendo uma instituição centrada na prevenção, diagnóstico e tratamento da doença oncológica justifica a terapêutica cedida aos doentes em regime de ambulatório pouco diversificada, dirigida ao tratamento de uma única patologia, o cancro.

Embora a terapêutica pouco diversificada seja, inevitavelmente, uma consequência da escolha do IPOCFG, E.P.E. como local de estágio considero com um ponto fraco porque

comprometeu o contacto com outros medicamentos de dispensa exclusiva hospitalar, de grupos farmacológicos diferentes.

6.3. OPORTUNIDADES *(Opportunities)*

6.3.1. VISITA MÉDICA

No IPOCFG, E.P.E., semanalmente, duas farmacêuticas efetuam a visita médica ao serviço de internamento de Radioterapia e de Oncologia Médica, em cooperação com o médico especialista, os médicos internos, a enfermeira chefe e a assistente social de cada unidade clínica.

A visita médica tem por objetivo analisar o estado de saúde de cada doente e avaliar a efetividade da terapêutica farmacológica instituída, para que possam ser tomadas determinadas medidas, como a alta hospitalar, a continuidade do internamento, a substituição da terapêutica e entre outras. O farmacêutico hospitalar, enquanto elemento da equipa multidisciplinar que intervém, opina sobre o perfil terapêutico do doente e alerta os médicos da necessidade de eventuais ajustes, quando se justifique.

Durante o estágio acompanhei uma das farmacêuticas, numa das suas visitas ao internamento de Radioterapia, o que se traduziu numa oportunidade de estimular o meu raciocínio e aplicar alguns dos conhecimentos farmacológicos adquiridos no curso, a cada doente, consoante a sua evolução clínica.

6.3.2. COLABORAÇÃO EM PROJETOS

No decorrer do estágio tive a oportunidade de colaborar com a equipa farmacêutica em vários projetos. De entre eles a elaboração de procedimentos destinados à gestão dos medicamentos de alerta máximo; a atualização do guia interno sobre os medicamentos administrados por sonda nasogástrica; a monitorização farmacocinética de alguns antibióticos (vancomicina, aminacacina e gentamicina); a elaboração de folhetos informativos de alguns medicamentos dispensados no ambulatório; e a determinação do consumo de antibióticos, em doses diárias definidas, no ano civil de 2019.

Todos os projetos, uns com uma componente mais prática e outros mais teóricos, permitiram-me enriquecer e/ou adquirir conhecimentos nas diferentes temáticas abordadas.

6.3.3. PREPARAÇÃO DE SOLUÇÕES INJETÁVEIS DE CITOTÓXICOS

No IPOCFG, E.P.E. a preparação de soluções injetáveis de citotóxicos na sala limpa, em câmaras de segurança biológica, é da responsabilidade dos TDTs. Todavia, a pedido

pessoal tive a oportunidade de colaborar com os TDTs e assim colocar em prática os requisitos da técnica de assepsia transmitidos outrora.

Como resultado ganhei alguma destreza nesta operação tão rigorosa, o que poder-me-á ser útil num futuro próximo, uma vez que em alguns hospitais esta atividade é da responsabilidade dos farmacêuticos.

6.3.4. ENRIQUECIMENTO DOS CONHECIMENTOS DO FORO ONCOLÓGICO

No MICF, a meu ver, existe uma lacuna na aprendizagem dos conceitos farmacológicos do foro oncológico. Ao estudo da terapêutica do cancro não é dado tanto ênfase como ao tratamento das doenças cardiovasculares, por exemplo. Este facto fundamentou a minha insegurança perante os diferentes medicamentos antineoplásicos, nos primeiros dias de estágio. Identificava este "mundo" novo como uma ameaça ao meu desempenho.

Porém, ao longo do tempo, a ameaça tornou-se numa oportunidade em consolidar e adquirir conhecimentos nesta área, por forma a colmatar a lacuna da formação académica.

6.4. AMEAÇAS *(Threats)*

6.4.1. DESVALORIZAÇÃO DA PROFISSÃO FARMACÊUTICA

Da intervenção do farmacêutico no circuito hospitalar do medicamento por vezes é necessário estabelecer um contacto com o médico prescritor.

Prezando pela efetividade do medicamento e pela segurança do doente o farmacêutico poderá, em algumas situações, ter que alertar o médico de erros de prescrição, como duplicação da terapêutica, interações medicamentosas e reações adversas, ou mesmo da não adesão do doente à terapêutica - identificada em conversa com o doente no setor do ambulatório-, o que implicará ajustes de dose, alteração de posologias ou modificação da terapêutica. Na maioria das vezes estes alertas são aceites e corrigidos. Todavia, alguns médicos são mais resistentes à opinião do farmacêutico como comprovei, infelizmente, durante o estágio.

Esta realidade é uma ameaça ao exercício da profissão farmacêutica. Somos desvalorizados por certos profissionais de saúde quando deveríamos intervir todos, cada um com as suas competências, em prol da saúde do doente.

7. CONCLUSÃO

Da análise crítica e objetiva concluo que esta jornada curricular, com todos os pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças, foi extremamente enriquecedora em duas dimensões.

A nível profissional, pela consolidação e aquisição de conhecimentos técnicos e científicos e sua aplicação a um ambiente real de trabalho, até então desconhecido; e a nível pessoal por proporcionar um contacto com uma realidade diferente e com certas particularidades, o cancro e o doente oncológico.

Esta experiência, embora limitada no tempo, despertou em mim o interesse de ingressar, num futuro próximo, nesta área profissional, face à importância que o farmacêutico assume em todo o circuito hospitalar do medicamento (seleção, aquisição, receção, armazenamento, preparação e distribuição).

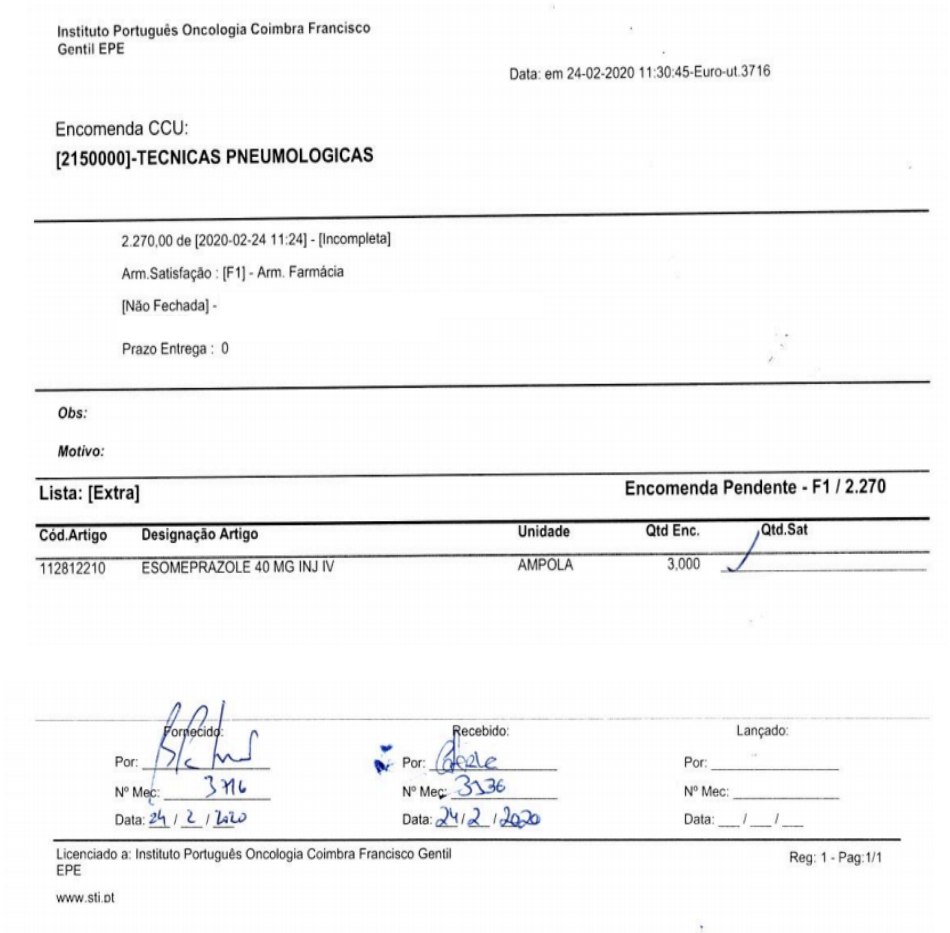
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS. **- Áreas Profissionais – Farmácia Hospitalar**. [Acedido a 26 de janeiro de 2020]. Disponível na Internet: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-hospitalar
2. **Decreto-Lei n.º 44 204, de 2 de Fevereiro de 1962.** [Acedido a 26 de janeiro de 2020]. Disponível na Internet: https://www.infarmed.pt/documents/15786/1068150/decreto_lei_44204-1962.pdf
3. IPO COIMBRA. - **Caracterização Institucional**. [Acedido a 25 de janeiro de 2020]. Disponível na Internet: http://www.ipocoimbra.min-saude.pt/category/institucional/caracterizacao-institucional/
4. IPO COIMBRA. - **Regulamento Interno**. (2009) [Acedido a 25 de janeiro de 2020]. Disponível na Internet: https://ipocoimbrafg.files.wordpress.com/2016/05/regulamento - interno-do-ipo-de-coimbra.pdf
5. TELES, A. *et al.* - **Manual de Procedimentos - Serviço de Farmácia Hospitalar.** 7ª Ed. IPO Coimbra. (2016).
6. DIREÇÃO - GERAL DA SAÚDE (DGS). - **Norma 020/2014: Medicamentos com nome ortográfico, fonético ou aspeto semelhantes.** (2014). [Acedido a 2 de fevereiro de 2020]. Disponível na Internet: https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0202014-de-30122014-pdf.aspx
7. CONSELHO DO COLÉGIO DE ESPECIALIDADE DE FARMÁCIA HOSPITALAR. - **Capítulo D: Distribuição**. In: Manual de Boas Práticas de Farmácia Hospitalar. (2019).
8. CRUJEIRA, R. *et al.* - **Programa do Medicamento Hospitalar.** Ministério da Saúde - Gabinete do Secretário de Estado da Saúde. (2007).
9. SILVA, A.; COSTA, M. - **Manual de Procedimentos da Unidade de Preparação de Citotóxicos.** 4° Ed. IPO Coimbra. (2019).

9. ANEXOS

ANEXO I: Exemplo de uma etiqueta de identificação dos medicamentos e produtos farmacêuticos. A etiqueta, de cor variável consoante a via de administração/ tipo de fármaco, inclui as seguintes informações: número interno do produto, ponto de encomenda, DCI, dosagem e forma farmacêutica.

ANEXO II: Exemplo de uma requisição do setor da DT. Na requisição figura o serviço requisitante; o número de encomenda; a data e a hora de elaboração; quem requisitou e a descrição do pedido – código interno do produto, DCI, forma farmacêutica e quantidade.



Instituto Português Oncologia Coimbra Francisco Gentil EPE

Data: em 24-02-2020 11:30:45-Euro-ut.3716

Encomenda CCU:
[2150000]-TECNICAS PNEUMOLOGICAS

2.270,00 de [2020-02-24 11:24] - [Incompleta]
Arm.Satisfação : [F1] - Arm. Farmácia
[Não Fechada] -
Prazo Entrega : 0

Obs:
Motivo:

Lista: [Extra] **Encomenda Pendente - F1 / 2.270**

Cód.Artigo	Designação Artigo	Unidade	Qtd Enc.	Qtd.Sat
112812210	ESOMEPRAZOLE 40 MG INJ IV	AMPOLA	3,000	

Fornecido: Por: Nº Mec: 3716 Data: 24 / 2 / 2020
Recebido: Por: Nº Mec: 3336 Data: 24/2/2020
Lançado: Por: Nº Mec: Data: __/__/__

Licenciado a: Instituto Português Oncologia Coimbra Francisco Gentil EPE
Reg: 1 - Pag:1/1
www.sti.pt

ANEXO III: Exemplo de um mapa terapêutico da DIDDU. O mapa terapêutico, gerado por serviço clínico, discrimina a medicação necessária de cada doente aí internado, para um período de 24 horas.

Instituto Português Oncologia Coimbra Francisco Gentil EPE

Data: em 24-02-2020 11:20:02-ut.3882

Malas - unidose

Lista preparação/especialidade/cama

[Com Localização]

Serviço.: 1#30999-CP/UROL INT

Datas...: 24-02-2020

Camas: [ ] - [zzzz]

Armazém.: F1 - Arm. Farmácia

Cama - Sala - Episódio / Designação do Artigo	Proc.Cod / Proc.Nome	Qtd	Freq	SOS	Quant.	Quant.Ant.	Dif Adm	Data Adm / Observação	Data Alta / Data Ini	Data Fim	Susp
CP/UROL INT											
001- 511-INT-20.500.989											
Obs: 19/02. Carboximaltose férrica não enviada- pareccer favorável, autorização no dossier do armazem											
ACIDO AMINOCAPROICO 3GR CARTEIRA		1	8/8h		3,00	0,00	3,00		18-02-2020		
ESOMEPRAZOLE 40 MG INJ IV		1	12/12h		2,00	0,00	2,00		18-02-2020		
LACTULOSE 15ML CARTEIRAS		1	12/12h		2,00	0,00	2,00		19-02-2020		
OXAZEPAM 15 MG COMP.		1	22h	SOS	1,00	0,00	1,00		18-02-2020		
002- 511-INT-20.501.039											
ALOPURINOL 300 MG COMP.		1	24/24h		1,00	0,00	1,00		20-02-2020		
AMIODARONA 200 MG COMP		1	24/24h		1,00	0,00	1,00		20-02-2020		
BROMAZEPAM 1.5MG COMP		2	24/24h		2,00	0,00	2,00		20-02-2020		
CIPROFLOXACINA 500 MG COMP. REVESTIDO *		1	12/12h		2,00	0,00	2,00		20-02-2020	27-02-2020	
DIGOXINA 0,25 MG COMP.		1	24/24h		1,00	0,00	1,00		20-02-2020		
ESPIRONALACTONA 25 MG COMP.		1	24/24h		1,00	0,00	1,00		20-02-2020		
FUROSEMIDA 40 MG COMP.		1	24/24h		1,00	0,00	1,00		20-02-2020		
TANSULOZINA 0,4 MG COMP. LP		1	24/24h		1,00	0,00	1,00		20-02-2020		

ANEXO IV. Exemplo de uma prescrição médica para a cedência de medicamentos em regime de ambulatório. A prescrição contempla os seguintes dados: identificação do doente (nome e número do processo interno do hospital) e médico prescritor; data da próxima consulta e prescrição farmacológica.

UTENTE:

Nº Receita

R144794

IPOCFG, EPE

BI/CC:-

Telefone: **Próxima Consulta:** 09-06-2020

Morada: **Concelho:** AGUEDA

Entidade Responsável: SERVICO NACIONAL DE SAUDE

Processo

Beneficiário

MÉDICO

Nº Ordem

35701

35701 - **Teresa Carvalho**

Especialidade:ONCOLOGIA MEDICA

Telefone:

IPOCOIMBRA-C.EXTERNA

U067280

RX Designação do medicamento, Dosagem, Via de administração, Forma Farmacêutica

1 ANAStrozol,Via oral,Comprimido

Data Início: 11-02-2020 **Data Fim:** 08-06-2020 Durac:.119 Dias

Posologia: Dose: 1 mg freq: 24/24h (10h)

Assinatura do Médico Prescritor

Assinatura da(o) Farmacêutica(o)

Recebido Por:

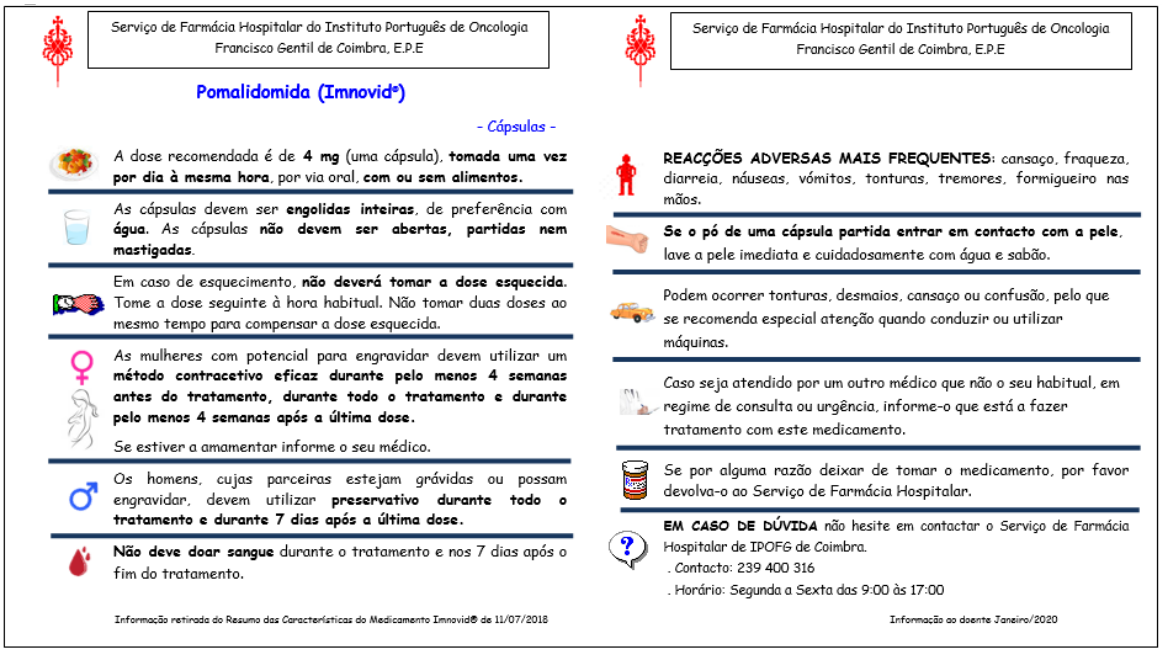
Data Receita: 11-02-2020 12:09:10 / / / /

Licenciado a:Instituto Português Oncologia Coimbra Francisco Gentil EPE

www.sti.pt

Pag.:1/1

ANEXO V: Exemplo de um folheto informativo interno. A informação, simples e clara, do folheto é uniformizada com a informação do respetivo resumo das características do medicamento.



Serviço de Farmácia Hospitalar do Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil de Coimbra, E.P.E

Pomalidomida (Imnovid®)

- Cápsulas -

A dose recomendada é de **4 mg** (uma cápsula), **tomada uma vez por dia à mesma hora**, por via oral, **com ou sem alimentos.**

As cápsulas devem ser **engolidas inteiras**, de preferência com **água**. As cápsulas **não devem ser abertas, partidas nem mastigadas**.

Em caso de esquecimento, **não deverá tomar a dose esquecida**. Tome a dose seguinte à hora habitual. Não tomar duas doses ao mesmo tempo para compensar a dose esquecida.

As mulheres com potencial para engravidar devem utilizar um **método contracetivo eficaz durante pelo menos 4 semanas antes do tratamento, durante todo o tratamento e durante pelo menos 4 semanas após a última dose.**

Se estiver a amamentar informe o seu médico.

Os homens, cujas parceiras estejam grávidas ou possam engravidar, devem utilizar **preservativo durante todo o tratamento e durante 7 dias após a última dose.**

Não deve doar sangue durante o tratamento e nos 7 dias após o fim do tratamento.

Informação retirada do Resumo das Características do Medicamento Imnovid® de 11/07/2018

Serviço de Farmácia Hospitalar do Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil de Coimbra, E.P.E

REACÇÕES ADVERSAS MAIS FREQUENTES: cansaço, fraqueza, diarreia, náuseas, vómitos, tonturas, tremores, formigueiro nas mãos.

Se o pó de uma cápsula partida entrar em contacto com a pele, lave a pele imediata e cuidadosamente com água e sabão.

Podem ocorrer tonturas, desmaios, cansaço ou confusão, pelo que se recomenda especial atenção quando conduzir ou utilizar máquinas.

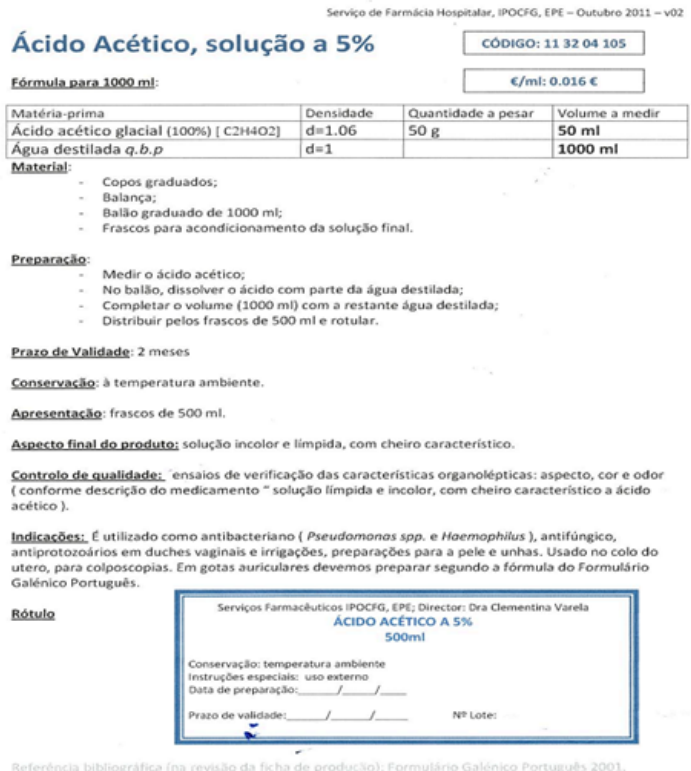
Caso seja atendido por um outro médico que não o seu habitual, em regime de consulta ou urgência, informe-o que está a fazer tratamento com este medicamento.

Se por alguma razão deixar de tomar o medicamento, por favor devolva-o ao Serviço de Farmácia Hospitalar.

EM CASO DE DÚVIDA não hesite em contactar o Serviço de Farmácia Hospitalar de IPOFG de Coimbra.
. Contacto: 239 400 316
. Horário: Segunda a Sexta das 9:00 às 17:00

Informação ao doente Janeiro/2020

ANEXO VI: Exemplo de um protocolo de preparação de formas galénicas não estéreis e respetiva ficha de preparação.



Serviço de Farmácia Hospitalar, IPOCFG, EPE – Outubro 2011 – v02

Ácido Acético, solução a 5%

CÓDIGO: 11 32 04 105

€/ml: 0.016 €

Fórmula para 1000 ml:

Matéria-prima	Densidade	Quantidade a pesar	Volume a medir
Ácido acético glacial (100%) [$C_2H_4O_2$]	d=1.06	50 g	**50 ml**
Água destilada *q.b.p*	d=1		**1000 ml**

Material:
- Copos graduados;
- Balança;
- Balão graduado de 1000 ml;
- Frascos para acondicionamento da solução final.

Preparação:
- Medir o ácido acético;
- No balão, dissolver o ácido com parte da água destilada;
- Completar o volume (1000 ml) com a restante água destilada;
- Distribuir pelos frascos de 500 ml e rotular.

Prazo de Validade: 2 meses

Conservação: à temperatura ambiente.

Apresentação: frascos de 500 ml.

Aspecto final do produto: solução incolor e límpida, com cheiro característico.

Controlo de qualidade: ensaios de verificação das características organolépticas: aspecto, cor e odor (conforme descrição do medicamento " solução límpida e incolor, com cheiro característico a ácido acético).

Indicações: É utilizado como antibacteriano (*Pseudomonas spp.* e *Haemophilus*), antifúngico, antiprotozoários em duches vaginais e irrigações, preparações para a pele e unhas. Usado no colo do utero, para colposcopias. Em gotas auriculares devemos preparar segundo a fórmula do Formulário Galénico Português.

Rótulo

Serviços Farmacêuticos IPOCFG, EPE; Director: Dra Clementina Varela
ÁCIDO ACÉTICO A 5%
500ml

Conservação: temperatura ambiente
Instruções especiais: uso externo
Data de preparação:_____/_____/____
Prazo de validade:_____/_____/____ Nº Lote:

Referência bibliográfica (na revisão da ficha de produção): Formulário Galénico Português 2001.

SERVIÇO DE FARMÁCIA HOSPITALAR IPOCFG, EPE

ÁREA DE FARMACOTECNIA

FICHA DE PREPARAÇÃO INDIVIDUALIZADA OU POR LOTES

Código	DESIGNAÇÃO	Forma farmacêutica	Data de preparação	Nº lote
113204105	Ácido Acético, Solução a 5%	Solução	07/01/2020	01 /2020

Matérias - primas	Nº de lote e laboratório	Quantidade	Rubrica do operador e data	Verificado por e data
Ác. acético glacial (100%)	240300104 Chem-Lab	50 ml	[illegible]	Andreia Gonçalves 07/01/2020
Água destilada q.b.p	13NHP131 Fresenius	1000 ml		

*A debitor:

Equipamento:
copo de precipitação de 50ml , seringa de 20ml;
botte; funil de vidro; proveta; vareta de vidro,
frascos de condicionamento

Preço unitário:
Quantidade preparada: 1000 ml
Preço total:

Notas: (cálculos Ci x Vi = Cf x Vf; alterações à tecnica de preparação.)

CONTROLO DE QUALIDADE	Resultado	Conformidade S ou N	Rubrica e data
Caracteres organolépticos	✓	S	
pH	—	—	Andreia Gonçalves 07/01/20
Transparência	✓	S	

Libertação de lote
Andreia Gonçalves 07/01/20
Data / Farmacêutica

- Proceder à rotulagem e colar um exemplar no espaço em baixo.
- Arquivar esta ficha de preparação, rubricada e datada.

Serviços Farmacêuticos IPOCFG, EPE; Director: Dra Clementina Varela
ÁCIDO ACÉTICO A 5%
500ml
Conservação: temperatura ambiente
Instruções especiais: uso externo
Data de preparação: 07/01/2020
Prazo de validade: 07/03/2020 Nº Lote: 01/2020

Serviço de Farmacia Hospitalar do IPOCFG, EPE, Modelo interno nº 20 – Out/11 – v03

ANEXO VII: Exemplo de folha de preparação de soluções injetáveis de citotóxicos.

Serviço de Farmácia
IPO Coimbra
C/ Por Determinar

6 de Fevereiro de 2020 14:54:49

FOLHA DE PREPARAÇÃO DE TRATAMENTOS (Antineoplásicos/T.Suporte)

NHC:	**Doente:**		
Peso: 83 Kg	Altura: 168 cm	SC:1,93 m²	Idade: 76 anos
Serviço: ONCOLOGIA MÉDICA	UH:HOSPITAL DE DIA		Cama/Localização: /EXTERNO
Data: 12-01-2010	**Esquema: DIG- CETUX-IRINOTECANO CONTINUAÇÃO**	**Ciclo Actual: 6**	**Dia Actual: 1**
Diagnóstico: DIG- CARCINOMA DO RECTO, JUNÇAO RECTO-SIGMOIDEIA E ANUS	Indicação:		Última Adm.: 31-01-2020
Alergias:	Não se conhecem alergias		

PREPARAÇÕES 06-02-2020

Or	P.Activo/Composto	Dose Total Vol. Total	Dose	Forma de Preparação	Volume	Unid.	Apresentação
22	**CLORETO DE SODIO 0,9%**		**250 ml**		**250 ml**	1	Cloreto de Sódio 0.9% 250 ml
	CETUXIMAB	480 mg 96 ml	**480 mg**		**96 ml**	5	Cetuximab 100 mg/ 20ml Sol inj Fr
					Total: 346 ml		**Enferm/Téc.**
24	**CLORETO DE SÓDIO 0,9%**		**250 ml**		**250 ml**	1	Cloreto de Sódio 0.9% 250 ml
	IRINOTECANO	350 mg 17,5 ml	**350 mg**		**17,5 ml**	1	Irinotecano 500 mg/ 25ml Sol inj Fr
					Total: 267,5 ml		**Enferm/Téc.**

RELAÇÃO DE MEDICAMENTOS E MATERIAL DESCARTÁVEL

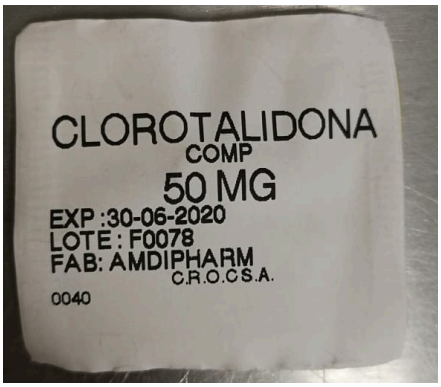
Código	Uni	P.Activo/Composto	Lote	Nome Registado
116812305	5	CETUXIMAB	G0082G	Cetuximab 100 mg/ 20ml Sol inj Fr
115208230	2	CLORETO DE SÓDIO 0,9%		Cloreto de Sódio 0.9% 250 ml
116804630	1	IRINOTECANO	Y16725	Irinotecano 500 mg/ 25ml Sol inj Fr

* Alerta de Stock mínimo

Técnico/Auxiliar E. _____

Validado por Farmacêutico Dr. _____

ANEXO VIII: Exemplo de um rótulo após o processo de reembalagem no equipamento semi-automático *Auto-Print Grifols*®. O rótulo deve incluir a DCI, a dose, o número de lote e o prazo de validade do respetivo medicamento.



PARTE II

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

Farmácia São José - Coimbra

Março – Agosto 2020

ABREVIATURAS

AIM	Autorização de Introdução no Mercado
COVID-19	*Coronavirus Disease 2019*
FSJ	Farmácia São José
MNSRM	Medicamento Não Sujeito a Receita Médica
MSRM	Medicamento Sujeito a Receita Médica
PIC	Preço Impresso na Cartonagem
PVF	Preço de Venda à Farmácia
PVP	Preço de Venda ao Público
SWOT	*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

1. INTRODUÇÃO

No âmbito da unidade curricular "Estágio" do plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra realizei o estágio, de carácter obrigatório, em Farmácia Comunitária.

A Farmácia Comunitária constitui a face mais visível da profissão e o primeiro local a que os portugueses recorrem mediante um problema de saúde. Dada à proximidade com a população, o farmacêutico comunitário encontra-se numa posição privilegiada para a promoção da saúde pública através da prestação de múltiplos serviços, focados no utente e nas suas necessidades [1] [2].

Com o presente relatório pretendo descrever a minha experiência na Farmácia São José (FSJ), sob a orientação do Dr. Paulo Monteiro, entre 2 de março e 14 de agosto de 2020, com uma duração total de 676 horas. No documento apresento as diferentes atividades em que tive um papel ativo e identifico, após uma reflexão crítica e retrospetiva, os pontos mais relevantes desta jornada curricular, de forma sucinta e estruturada, de acordo com o modelo de análise SWOT *(Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats)*.

2. FARMÁCIA SÃO JOSÉ

A FSJ situa-se no centro comercial Primavera, na avenida Calouste Gulbenkian, em Coimbra.

Em termos de estrutura, a farmácia dispõe das instalações e dos equipamentos necessários para o cumprimento das suas funções, dirigidas ao medicamento e dirigidas ao doente [3]. Contempla uma ampla área de atendimento com dez balcões; dois gabinetes de atendimento personalizado, disponíveis para um diálogo, confidencial e em privado, com o utente e para a prestação de outros serviços farmacêuticos; um laboratório para a manipulação de medicamentos; diferentes zonas de armazenamento dos medicamentos e produtos farmacêuticos (gôndolas, lineares, armários, *robot*); uma área destinada à receção e conferência de encomendas; um escritório e instalações sanitárias.

Em termos de recursos humanos, a FSJ integra uma equipa multidisciplinar de dezoito colaboradores, nove dos quais são farmacêuticos. Pelas dimensões e pela panóplia de funções exercidas na farmácia são partilhas e a atribuídas responsabilidades específicas a alguns colaboradores em certas atividades como a preparação de medicamentos

manipulados; a conferência de receituário e faturação; o controlo de psicotrópicos e estupefacientes, entre outras.

3. ANÁLISE SWOT

3.1. PONTOS FORTES *(Strengths)*

3.1.1. EQUIPA TÉCNICA

A equipa multidisciplinar da FSJ preza pelo profissionalismo e pela experiência. Uma equipa dinâmica que ambiciona, a cada dia, o crescimento da farmácia ao abraçar novos desafios, segundo uma perspetiva de melhoria contínua, sem nunca colocar em causa a missão de promoção da saúde e o bem-estar do utente e do cidadão em geral.

Desde o primeiro dia, todos os profissionais mostraram-se disponíveis para a transmissão de conhecimentos e para o esclarecimento de qualquer dúvida, proporcionando-me um boa integração na equipa técnica. Também, depositaram em mim autonomia para a execução das tarefas atribuídas, incutindo-me um sentido de responsabilidade.

Este espírito de interajuda e confiança pela equipa técnica foi um ponto forte no desenrolar desta experiência.

3.1.2. DIVERSIDADE DOS PRODUTOS FARMACÊUTICOS

A FSJ possui um vasto leque de produtos, desde medicamentos, dispositivos médicos, produtos cosméticos, produtos de puericultura, produtos fitoterapêuticos e entre outros.

O contacto com os diferentes produtos, de diferentes gamas e de diferentes marcas permitiu-me ter uma visão mais abrangente das múltiplas referências do mercado, identificar as vantagens e desvantagens de cada uma e caracterizar a população alvo a que se dirigem, um ponto claramente enriquecedor para futuros aconselhamentos.

3.1.3. DIVERSIDADE DAS FUNÇÕES DESEMPENHADAS

A farmácia comunitária para além da prestação de cuidados de saúde à comunidade (*front office*) também envolve processos de gestão e logística (*back office)*. Ainda que distantes do olhar do público deverão estar coordenados e otimizados com as restantes atividades para assegurar o funcionamento da farmácia com a máxima eficiência.

Ao longo do estágio tive a possibilidade de conhecer e participar autonomamente nas diferentes atividades (a seguir identificadas), uma mais-valia na compreensão da dinâmica de trabalho da farmácia comunitária.

3.1.3.1. Atividades de *Back Office*

3.1.3.1.1. Gestão de *stocks*

Uma gestão eficiente de *stocks* é um dos pilares para o sucesso da farmácia. Uma análise detalhada das variáveis do mercado como o perfil socioeconómico dos clientes, a sazonalidade e o histórico de vendas de cada produto, assim como a seleção dos fornecedores preferenciais, que garantam produtos com qualidade nas melhores condições financeiras, é preponderante. Só dessa forma a farmácia será capaz de suprir as necessidades dos clientes com a menor mobilização de capital.

3.1.3.1.1.1. Aquisição, Receção e Armazenamento de medicamentos e produtos farmacêuticos

A aquisição de medicamentos e produtos farmacêuticos pode ser por encomenda direta ao laboratório, junto dos respetivos delegados, ou por encomenda diária e instantânea a armazenistas/cooperativas, através do programa informático Sifarma 2000® ou por via telefónica. A primeira é privilegiada para grandes volumes e quando o tempo de entrega não é um fator limitante.

Na farmácia, aquando da receção das encomendas é dada prioridade aos produtos termolábeis, para não quebrar a cadeia de frio, e a medicamentos psicotrópicos e estupefacientes, por motivos legais. Numa primeira fase verifica-se a conformidade da fatura com os produtos enviados, as condições de armazenamento/ estado geral da encomenda e os prazos de validade. Caso se contaste a falta de um produto contacta-se o fornecedor, descreve-se o sucedido e retifica-se a situação, algumas vezes com o envio posterior do produto outras vezes pela emissão de uma nota de crédito. Em contrapartida, se for enviado um produto não solicitado ou o produto encontra-se danificado será devolvido ao fornecedor, com a respetiva nota de devolução. Numa segunda fase, a encomenda é rececionada no Sifarma 2000®, consoante os dados que constam na respetiva fatura, emitida em duplicado (Código Nacional do Produto (CNP), número de unidades, prazo de validade, Preço de Venda à Farmácia (PVF) e bonificações), para que os produtos recebidos entrem no *stock* real da farmácia. Nos produtos sem o Preço Impresso na Cartonagem (PIC) calcula-se o Preço de Venda ao Público (PVP), em função do PVF, do Imposto sobre o Valor Acrescentado (IVA) e da margem legal de lucro; nos restantes produtos o PVP equivale ao

PIC, devendo-se confirmar aquando da receção. Todos os documentos são assinados e datados pelo funcionário que entreviu no processo e arquivados num dossiê, com a particularidade de os originais seguirem para o departamento financeiro, encarregue pelos pagamentos.

Por fim, segue-se o armazenamento dos produtos no *robot* ou nos respetivos armários e lineares devidamente identificados, por ordem alfabética da marca, obedecendo às condições gerais e específicas de conservação, discriminadas nas boas práticas de farmácia comunitária, e respeitando o princípio "*first in, first out*" para uma adequada rotação dos *stocks*.

3.1.3.1.1.2. Gestão e Regularização de devoluções

A devolução de um produto efetua-se por vários motivos como produto danificado, cliente não veio buscar o produto, prazo de validade expirado, produto não encomendado e entre outros. É imprescindível a identificação precoce de uma destas situações para que seja possível uma devolução com sucesso, minimizando os prejuízos da farmácia.

A devolução pode ser feita, tanto para um laboratório como para um armazenista/cooperativa, dependendo da origem do produto. Para o efeito é necessário a emissão de uma nota de devolução (em triplicado) com identificação do fornecedor, do número da fatura, do produto e do motivo de devolução. O documento original e duplicado são carimbados e assinados pelo colaborador da farmácia e acompanhará o produto aquando da sua recolha enquanto o documento triplicado, assinado por quem levanta o produto, ficará arquivado num dossiê. Os produtos juntamente com os documentos são armazenados num local próprio.

A devolução de produtos poderá ter dois desfechos, ou a entidade a quem se destina aceita ou não aceita o motivo. Consequentemente, no primeiro caso regulariza-se a devolução com produto ou é emitida uma nota de crédito; no segundo caso o produto será novamente entregue na farmácia.

3.1.3.1.2. Conferência de Receituário e Faturação

A conferência do receituário sucede-se ao ato da dispensa e pressupõe uma verificação e uma validação de todas as receitas aviadas. Um colaborador nomeado para esta função, diariamente, averigua o preenchimento dos campos obrigatórios e a validade de cada receita, confirma a correspondência entre a medicação dispensada com a medicação prescrita e a analisa o plano de comparticipação aplicado. Perante alguma incongruência, as

receitas são separadas para a sua retificação junto do médico ou doente, conforme aplicável. Esta conferência é crucial para minimizar os prejuízos da farmácia e salvaguardar os direitos dos utentes.

Posteriormente, as receitas são agrupadas em função do organismo de comparticipação, do número de lote e por ordem crescente do número atribuído à receita. Genericamente, cada lote é constituído por um total de trinta receitas, exceto o último lote faturado, que pode ser constituído por um número inferior, e as receitas eletrónicas desmaterializadas em que o lote é único.

No fim de cada mês, por forma a farmácia ser ressarcida dos valores de comparticipação dos medicamentos emite-se o verbete de identificação de lotes, que discrimina para cada receita de cada lote a importância correspondente ao PVP, a importância paga pelos utentes e a importância da comparticipação; a relação resumo de lotes, que contempla uma informação semelhante à do verbete mas relativa ao conjunto de lotes; e a fatura mensal [4]. Uma cópia de cada documento fica arquivada na farmácia, as restantes são anexadas às respetivas receitas e enviadas por correio para a Associação Nacional de Farmácias (ANF), um elo de ligação entre a farmácia e as restantes entidades, que adianta o pagamento dos montantes.

3.1.3.2. Atividades de *Front Office*

3.1.3.2.1. Dispensa de medicamentos e produtos farmacêuticos

A dispensa de medicamentos, mediante uma prescrição médica ou em regime de automedicação ou de indicação farmacêutica, representa a atividade mais visível da farmácia comunitária. Não deve ser encarada como um mero ato comercial mas como uma oportunidade de o farmacêutico expressar-se enquanto agente de saúde pública. Assim deverá complementar a dispensa dos medicamentos com toda a informação indispensável para o seu uso correto, seguro e eficaz, para que o doente retire o máximo benefício do tratamento.

A intervenção farmacêutica é mais evidente aquando da cedência de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM), requeridos por iniciativa própria do doente (automedicação) ou sob a responsabilidade do farmacêutico (indicação farmacêutica). Em ambas as situações é fundamental criar um diálogo inicial com o utente por forma a recolher a informação necessária (como a queixa principal, os sintomas, a duração e intensidade dos sintomas, se já iniciou alguma terapêutica) para uma avaliação correta das suas necessidades [3].

Embora este diálogo seja dispensável aquando da dispensa de medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM), uma vez que as necessidades do utente foram identificadas *a priori* pelo médico prescritor, o farmacêutico deverá adotar uma atitude crítica e proactiva perante a receita médica. Deverá validar a prescrição com base nos requisitos legais - o não cumprimento dos mesmos implicará a não comparticipação dos medicamentos prescritos; avaliar o perfil farmacoterapêutico do utente; e identificar possíveis erros de prescrição que possam, de algum modo, comprometer a segurança, a saúde e o bem-estar do doente [3].

Desta forma, a intervenção do farmacêutico no ato da dispensa é imprescindível para a promoção da adesão à terapêutica e para garantir uma automedicação fundamentada e instruída por parte do doente.

Durante o estágio, a interação com o utente ao balcão permitiu-me o contacto com as diferentes receitas médicas (manuais, eletrónicas materializadas e eletrónicas desmaterializadas); conhecer os diferentes regimes de comparticipação, regime geral e regimes especiais (com uma comparticipação acrescida); desenvolver competências de interação e comunicação com o utente e contribuir para o uso racional dos medicamentos, ao prestar o meu aconselhamento, muitas vezes suportado na informação científica disponível no Sifarma 2000®.

3.1.3.2.2. Preparação de Medicamentos Manipulados

Os medicamentos manipulados incluem fórmulas magistrais (preparadas segundo uma prescrição médica para um determinado doente) e preparados oficinais (preparados segundo indicações compendiais, de uma farmacopeia ou formulário reconhecido pelo INFARMED (Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.) [5], que visam colmatar lacunas no mercado farmacêutico. Independentemente do tipo de preparação, à semelhança dos medicamentos produzidos industrialmente, são requeridos elevados padrões de qualidade e, consequentemente, uma preparação segundo boas práticas.

A FSJ dispõe de um *software* interno, SoftGaleno®, que auxilia no preenchimento das fichas de preparação; determina automaticamente o PVP, com base no valor dos honorários da preparação, no valor das matérias-primas e no valor dos materiais de embalagem, ao qual poderá ser aplicada uma comparticipação de 30% pelo Serviço Nacional de Saúde (SNS) se o medicamento constar na lista publicada em anexo ao Despacho nº 18694/2010 de 16 de Dezembro [6]; e contribui na gestão de *stock*s da farmácia, na medida que as matérias-primas e o material de acondicionamento utilizado são retirados automaticamente do *stock* da farmácia.

De um modo geral, mediante um pedido cria-se a ficha de preparação, que será impressa, datada e assinada pelo farmacêutico e arquivada num dossiê próprio. Segue-se as operações de preparação, acondicionamento, rotulagem e controlo de qualidade, em conformidade com a ficha de preparação, no laboratório.

Apesar dos pedidos de manipulados serem cada vez menos frequentes, durante o estágio colaborei com o farmacêutico delegado para esta função na preparação de alguns manipulados prescritos para um determinado doente, como a solução de álcool 60% boricado à saturação (Anexo 1), permitindo-me aplicar conhecimentos adquiridos, em particular nas unidades curriculares de farmácia galénica e de tecnologia farmacêutica, e aprender algumas particularidades do processo, como o cálculo do PVP e comparticipações.

3.1.3.2.3. Monitorização de parâmetros bioquímicos e/ou fisiológicos

A FSJ dispõe de vários serviços farmacêuticos, entre eles a determinação de parâmetros bioquímicos e/ou fisiológicos (pressão arterial, glicémia capilar, colesterol total, triglicéridos, peso, altura, índice de massa corporal), com recurso a equipamentos devidamente validados e calibrados.

A oferta destes serviços proporcionou-me um contacto mais íntimo como o utente, favorecido pelo ambiente cómodo e privado do gabinete de atendimento personalizado. Em função do valor do indicador e dos valores padronizados reforcei a necessidade da adoção de medidas não farmacológicas, essenciais para o controlo dos mesmos, com vista a uma melhor qualidade de vida.

3.2. PONTOS FRACOS *(Weaknesses)*

3.2.1. NÚMERO DE ESTAGIÁRIOS

No decurso da minha experiência a FSJ recebeu, para além de mim, mais 10 estagiários. O sucedido aliado ao trabalho acrescido e ao desfalque da equipa técnica, como consequências da pandemia COVID-19 (*Coronavirus Disease 2019*), constituiu um entrave à minha aprendizagem. Por um lado, o acompanhamento pelos colaboradores não foi tão linear, embora estivessem sempre disponíveis para esclarecerem dúvidas ou responderem a questões, e por outro as tarefas não eram suficientes para todos nós, gerando, inevitavelmente, "tempos mortos".

A meu ver, se o número de estagiários fosse menor, perante as mesmas adversidades da sociedade, o desempenho de cada um seria otimizado.

3.2.2. PLANO DE ESTÁGIO

Apesar das múltiplas tarefas realizadas (Ponto 3.1.3.) não houve um plano lógico e estruturado, útil para delinear um percurso coerente e para homologar as competências adquiridas entre os estagiários.

O atendimento ao balcão muito precoce, antes de todo o trabalho de *back office* e da observação do comportamento dos funcionários no ato da dispensa, conduziu a grande insegurança nos primeiros contatos com o utente. Procurava obter segundas opiniões para um melhor aconselhamento, questionava os colaboradores como deveria executar o processo ou mesmo onde poderia encontrar os produtos em causa o que, consequentemente, requeria mais tempo e uma imagem menos profissional. Alguns clientes eram compreensivos, outros menos pacientes, colocando-me numa posição desconfortável.

Porém, aprendi com os meus próprios erros, também ela uma forma de evoluir.

3.2.3. HOMOGENEIDADE DOS CLIENTES

A FSJ localiza-se num zona privilegiada, na proximidade de locais de prestação de serviços na área da saúde, numa zona de elevada densidade populacional e de comércio local, propício a um grande fluxo diário de clientes e o acesso de um público diversificado. Todavia, a farmácia é frequentada, essencialmente, por utentes habituais, que se enquadram numa população com um nível de literacia elevado.

Esta homogeneidade de clientes foi um aspeto negativo no estágio porque muitos deles exercem a medicina como atividade profissional, o que limitou o meu aconselhamento aquando do ato da dispensa. Na maioria das vezes, com pouco tempo disponível, deslocavam-se à farmácia para comprar medicamentos prescritos naquele momento ou para comprar outros produtos farmacêuticos, não dando margem a possíveis intervenções farmacêuticas.

3.2.4. RESERVA DOS UTENTES AO ATENDIMENTO POR ESTAGIÁRIOS

No balcão de atendimento, alguns utentes recusaram, expressamente, a serem atendidos por mim; outros aceitavam mas demonstravam desconfiança das minhas competências, questionando todas as ações durante o processo.

O facto de a farmácia ser frequentada, essencialmente, por clientes habituais, justifica a preferência no atendimento por um dos colaboradores da farmácia em detrimento de qualquer estagiário. Apesar de plausível, esta reserva dos utentes acabou por ser um ponto

negativo do estágio, uma vez que esta atitude deixava-me numa posição desconfortável, insegura, comprometendo a minha performance no atendimento e aconselhamento.

3.3. OPORTUNIDADES *(Opportunities)*

3.3.1. VALORIZAÇÃO DA PROFISSÃO EM CONTEXTO PANDÉMICO

O surto e a rápida disseminação da doença infeciosa COVID-19, declarada como uma pandemia pela Organização Mundial de Saúde (OMS), teve (ainda tem) grandes repercussões no país e no mundo.

As farmácias comunitárias viram-se obrigadas a formular um plano de contingência com a finalidade de antecipar e gerir o impacto da doença, tanto na população como nos colaboradores da farmácia [7] [8]. Reinventou-se o modo de funcionamento por implementação de algumas medidas como o atendimento pelo postigo ou perante uma barreira de acrílico; uma distância de, pelo menos, um a dois metros entre colaboradores e utentes; um limite ao número de utentes no espaço de atendimento; a constante higienização das mãos, balcões de atendimento e terminais de multibanco; o uso de máscara; e entre outras.

Na FSJ, para além do distanciamento físico (e não social), verificou-se um aumento da procura dos serviços da farmácia pelos utentes que, inevitavelmente, desencadeou um acréscimo de trabalho à equipa técnica, com a necessidade paralela de um reforço de *stock*s de medicamentos e de equipamentos de proteção individual, assim como a preparação de soluções antissépticas de base alcoólica (SABA) - face à escassez de produtos para o mesmo fim no mercado.

Todavia, a meu ver, a pandemia de um grande desafio tornou-se uma oportunidade de os farmacêuticos, inclusive os farmacêuticos comunitários, afirmarem-se como elementos essenciais para a salvaguarda da saúde pública, tal como os médicos, onde esse reconhecimento é mais evidente. A farmácia comunitária teve um papel pedagógico e determinante na divulgação de informação clara e fidedigna aos utentes, ao sensibiliza-los para a adoção de regras de conduta para minimizar o contágio, a transmissão e a propagação da doença e para evitarem comportamentos alarmistas, desencorajando a compra de medicamentos em grandes quantidades. Também garantiu aos utentes a continuidade da terapêutica através da implementação de circuitos alternativos como a dispensa de medicamentos normalmente dispensados pelos serviços farmacêuticos hospitalares bem como a intensificação dos serviços domiciliários.

Esta crise global de saúde veio a reforçar a necessidade da intervenção de todos, os farmacêuticos e as farmácias comunitárias não são exceção, para que os sistemas de saúde sejam eficientes e sustentáveis.

3.3.2. FORMAÇÕES EXTERNAS

As ciências da saúde sendo áreas em constante evolução obrigam a que qualquer profissional de saúde, como o farmacêutico, mantenham as suas capacidades técnicas e científicas atualizadas [9]. Só desta forma será capaz, perante as diferentes adversidades do dia-a-dia, apresentar soluções e satisfazer as necessidades de uma população cada vez mais exigente.

No contexto de formação contínua, a FSJ recebe, frequentemente, colaboradores de diversos laboratórios para ministrarem formações dirigidas a todos os elementos da equipa técnica, durante o período laboral.

Apesar de o número de formações ter diminuído, substancialmente, face ao problema que o país e o mundo atravessa, o COVID-19, como estagiária tive a oportunidade de assistir a algumas formações. Com elas adquiri novos conhecimentos relativos a determinados medicamentos e produtos farmacêuticos, úteis para um aconselhamento com maior rigor, em conformidade com o estado da arte.

3.3.3. IMPLEMENTAÇÃO DO PROJETO KAIZEN

O projeto Kaizen (Kai = mudar, Zen = melhor) desenvolvido pelo *Kaizen Institute* visa a redução do desperdício, a melhoria na capacidade de resposta ao cliente e o aumento da rentabilidade da farmácia, segundo uma política de melhoria contínua [10].

A FSJ abraçou, recentemente, este projeto o que constituiu uma oportunidade de, ao longo do estágio, conhecer a metodologia, participar em algumas das suas atividades e observar o seu impacto. Mediante erros/falhas identificadas e atribuição de tarefas sucedeu-se a organização dos espaços e a padronização e otimização dos vários processos, aliadas a reuniões regulares entre os colaboradores, para análise dos indicadores de desempenho, divulgação de campanhas, definição de objetivos e identificação de potenciais melhorias. A implementação do projeto, encarado como parte integrante do dia-a-dia da farmácia e não como uma moda, traduziu-se em ganhos na eficiência operacional.

3.4. AMEAÇAS *(Threats)*

3.4.1. DESVALORIZAÇÃO DO MEDICAMENTO

No decorrer do estágio constatei que parte da população reconhece o medicamento como um produto inócuo, negligenciando efeitos negativos que possam surgir de uma utilização inadequada dos mesmos. Pedidos recorrentes para a cedência de MSRM, como antidepressivos e antibióticos, sem que haja uma prescrição médica retrata o problema na comunidade.

O acesso a fontes de informação pouco fidedignas em termos técnico-científicos, a que incentiva uma automedicação, por vezes, injustificada, e a venda de medicamentos em locais que não as farmácias, nos quais o aconselhamento terapêutico é deficitário, sustentam o uso banal do medicamento - uma ameaça ao setor.

Os farmacêuticos enquanto especialistas do medicamento e cientes da sua desvalorização deverão contrariar essa tendência. Deverão prestar sempre um aconselhamento simples e compreensível, educando os utentes para o uso responsável do medicamento e desmitificando ideias erradas na sociedade.

3.4.2. RUTURA DE *STOCKS* DE MEDICAMENTOS

Um medicamento de um determinado laboratório poderá, por vezes, estar indisponível na farmácia por razões internas de gestão de *stocks*. Aqui existem duas alternativas ou encomendar o produto, por via instantânea, ou optar por um medicamento, com a mesma substância ativa, forma farmacêutica e dosagem, de diferente laboratório, disponível no *stock* da farmácia. Utentes mais resilientes preferem interromper o tratamento até à chegada do medicamento pretendido em detrimento da mudança de laboratório. Nestas situações, o farmacêutico deverá desencorajar tais escolhas e informar, com uma linguagem simples e clara, que os padrões de segurança, eficácia e qualidade são os mesmos para quaisquer laboratório, quer seja de um medicamento original ou de um medicamento genérico.

Porém, o problema agrava-se quando as ruturas de *stock*s são comunicadas pelos titulares de autorização de introdução no mercado (AIM) dos medicamentos, uma realidade alheia à farmácia que poderá, no extremo, implicar a substituição da substância ativa.

Infelizmente, durante o estágio deparei-me com este cenário com o medicamento Victan® 2 mg (substância ativa loflazepato de etilo) indicado para a ansiedade e sintomas ansiosos. A empresa Sanofi Produtos Farmacêuticos Lda., o único titular de AIM do medicamento em Portugal, alertou da incapacidade temporária de abastecer o mercado,

prevendo uma reposição apenas no 4º trimestre do presente ano civil [11]. Sem medicamentos genéricos disponíveis no mercado, os utentes foram alertados e incentivados a recorrer ao seu médico para avaliar qual a terapêutica alternativa mais adequada. Todavia, muitos não estabeleceram esse contacto, dirigiam-se, com regularidade, à farmácia na expetativa de o problema estar resolvido adiando, consequentemente, o tratamento farmacológico.

Considero assim a rutura de *stock*s de medicamentos no mercado uma ameaça pela insatisfação do cliente, que não entende que a situação transcende a farmácia acabando por lhe imputar a responsabilidade, assim como pelas possíveis consequências negativas que acarreta para a saúde dos utentes.

4. CASOS PRÁTICOS

CASO PRÁTICO I

Um jovem, do sexo masculino, dirige-se à farmácia pedindo "qualquer coisa para desinfetar o joelho esmurrado" decorrente de uma queda no futebol. Refere ainda "Pode ser o Betadine® ou algo semelhante".

Mediante uma análise visual da ferida (aberta e sem crosta) recomendei o uso de outro antissético, sem cor e sem álcool - para minimizar o desconforto durante a aplicação-, como a cloro-hexidina. Embora o Betadine® tenha na sua composição uma substância antissética (iodopovidona) não era o mais adequado para aquela ferida porque a sua cor acastanha poderia mascarar uma possível sobre-infecão.

Aconselhei a limpeza da ferida com um *spray* antisséptico, *Spray para Feridas Hansaplast®*, e a aplicação de uma pomada para auxiliar a regeneração dos tecidos, *Pomada para a Cicatrização de Feridas Hansaplast®*.

CASO PRÁTICO II

Uma senhora, na casa dos 60 anos, dirige-se à farmácia à procura de um produto eficaz na eliminação de um "calo que apareceu há dias na mão", por motivos estéticos.

Pedi, atenciosamente, para mostrar o calo a que se referia. Analisei o seu aspeto e conclui que não estava perante um calo mas de uma verruga comum, uma lesão cutânea de origem viral bem delimitada e com uma superfície áspera.

Aconselhei assim a *Caneta Verrugas Scholl®* pela sua fácil e precisa aplicação. Todavia, informei a utente que o produto cedido continha um composto ácido, em concreto o ácido tricloroacético, pelo que deveria evitar o seu contacto com a pele saudável em redor da verruga ou optar por colocar um creme gordo (como a vaselina) em torno da verruga, como uma medida de precaução.

5. CONCLUSÃO

Da análise crítica e objetiva concluo que esta jornada curricular, com todos os pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças, foi extremamente enriquecedora, tanto a nível profissional como a nível pessoal.

Por um lado permitiu-me consolidar os conhecimentos técnicos e científicos, adquiridos ao longo do curso, e aplicá-los à realidade profissional. Por outro lado complementou o percurso formativo ao adquirir novas competências, de comunicação com o utente graças à sua proximidade com o farmacêutico comunitário, e nos diferentes processos que decorrem na farmácia comunitária, mais do que aqueles que são visíveis ao olhar do público.

Ressalvo também que o período em que decorreu o estágio, perante uma crise global de saúde, tornou a experiência ainda mais desafiante e gratificante. Apesar das múltiplas medidas de contingência a que obrigou senti, no terreno, um maior reconhecimento do farmacêutico como um profissional crucial para a promoção da saúde pública e para assegurar a eficiência e sustentabilidade dos sistemas de saúde.

Se nos primeiros dias sentia-me insegura, hoje termino mais confiante e com mais orgulho da profissão que escolhi.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS. **- Áreas Profissionais - Farmácia Comunitária.** [Acedido a 21 de março de 2020]. Disponível na Internet: https:// www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/
2. VALOR DO FARMACÊUTICO. - **Áreas de Intervenção - O Farmacêutico Comunitário.** [Acedido a 21 de março de 2020]. Disponível na Internet: http:// www.valordofarmaceutico.com/
3. SANTOS, H. *et al.* - **Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária.** 3ª Ed. Conselho Nacional da Qualidade. Ordem dos Farmacêuticos. (2009).
4. ADMINISTRAÇÃO CENTRAL DO SISTEMA DE SAÚDE, IP (ACSS). - **Manual de Relacionamento das Farmácias com o Centro de Conferência de Faturas do SNS.** (2015).
5. IVO, Rui. - **Medicamentos Manipulados**. Lisboa: Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento (INFARMED). (2005). ISBN 972-8425-66-X.
6. **Portaria n.º 769/2004, de 1 de Julho.** [Acedida a 14 de junho de 2020]. Disponível na Internet: https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/portaria_769-2004.pdf/a0b1c512-ac77-42d4-9b06-8b1f3da9fb4d
7. CENTRO DE INFORMAÇÃO DO MEDICAMENTO E INTERVENÇÕES EM SAÚDE (CEDIME). - **Plano Contingência COVID-19 – Farmácia**. (2020). [Acedido a 4 de julho de 2020]. Disponível na Internet: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/plano_de_contingencia_da_farmacia_para_o_covid_19_5774390585e60fd3b28fbc.pdf
8. DIREÇÃO-GERAL DA SAÚDE (DGS). - **Norma 003/2020: Infeção por SARS-CoV-2 (COVID-19) - Farmácias comunitárias**. (2020). [Acedido a 4 de julho de 2020]. Disponível na Internet: https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0032020-de-19032020-pdf.aspx
9. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS. - **Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos.** [Acedido a 20 de junho de 2020]. Disponível na Internet: https:// www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/a-ordem-dos-farmaceuticos/regulamentos/

10. GLINTT. - **Consultoria de Projeto.** [Acedido a 22 de junho de 2020]. Disponível na Internet: https://www.glintt.com/pt/o-que-fazemos/ofertas/BusinessConsulting/ Paginas/ Consultoria-de-Projeto.aspx

11. INFARMED. - **Circular informativa n.º 134/CD/100.20.200 - Indisponibilidade do medicamento Victan® 2mg**. (2020). [Acedido a 8 de agosto de 2020]. Disponível na Internet: https://www.infarmed.pt/web/infarmed/infarmed/-/journal_ content/56/15 786/3753383

7. ANEXOS

ANEXO I: Ficha de preparação de um medicamento manipulado – Álcool 60% Boricado à Saturação. A ficha deverá incluir os seguintes dados: identificação do utente e do médico prescritor; número de lote do manipulado; matérias-primas e respetivas quantidades; material de acondicionamento; equipamento; procedimento; ensaios de controlo de qualidade e o PVP.

FARMÁCIA S. JOSÉ

Farmácia São José

Ficha de Preparação do Manipulado

Álcool 60% Boricado à Saturação

Cliente:

Forma Farmacêutica: SOLUÇÃO

Data de Preparação: 14/08/2020 Prazo Validade : 13/10/2020

Nº Lote : 5.VIII.20 Registo Copiador : 2.194

Condições de Conservação :

Posologia:

Qtd. Total Medicamento : 1 X 30,00 ml

Director Técnico : Dr. Paulo Monteiro

Operador : Dra. Marta Abreu

Médico:

Honorários:	5,05 €
Factor Multiplicativo:	3,00

Valor Net :	22,84 €
Valor IVA :	1,37 €
Valor Total:	**24,21 €**

Valor PVP
24,21 €

Matérias Primas	Usar	Nº Lote	Origem	Qtd. Usada	Unid	Preço Aq. s/ IVA	Factor Multiplic.	Preço Mat.prima
Ácido Bórico		200259-O	Acofarma	1,20	g	0,00 €	2,20	0,00 €
Agua Purificada		0001.2020	J. M. Vaz Pereira	2,91	g	0,01 €	2,20	0,06 €
							Subtotal	**0,06 €**

Produto	Cod de Iva	% Iva	P.V.P	Preço
Álcool a 70% (Lt:20000511)	RED	6,00	1,51 €	1,42 €

Preparação
Verificar o estado de limpeza do material a utilizar,
Colocar em proveta rolhada uma quantidade de álcool a 60% (8.23 mL de álcool a 70% + 1.77mL de água para 10 mL) correspondente a cerca de 3/4 da quantidade total de solução a preparar.
Pesar o ácido bórico e adicionar, aos poucos, ao álcool a 60%, agitando fortemente durante 20 seg após cada adição.
Após a adição de todo o ácido bórico, completar o volume com álcool a 60% e agitar durante 20 seg.
Deixar a proveta em repouso 1 hora, agitando-a, durante 20 segundos, de 15 em 15 minutos.
Filtrar a solução obtida em 5.
Transferir para um frasco conta gotas, Fechar e rotular a embalagem.
Limpar e arrumar o laboratório.
Aparelhagem
Balança electrónica
Espátula
Proveta

Embalagem	Tipo	Nº Lote	Fornecedor	Capac	Qtd	Preço	Fact. Mult.	Valor Net
Frasco Conta-Gotas Vidro	EMBAL		Plural	30 mL	1,00	1,06 €	1,20	1,27 €
							Subtot	**1,27 €**

Ensaio	Especificação	Conforme	Utilizador	Assinatura
Cor	Incolor	☑		
Odor	Inodoro	☑		
Aspecto	Homogéneo	☑		
Quantidade	30 mL +- 5%	☑		

___/___/___ (Data)

_____ (Assinatura)

PARTE III

MONOGRAFIA

"AS PLAQUETAS COMO UMA ABORDAGEM PROMISSORA NO DIAGNÓSTICO E NA TERAPÊUTICA DO CANCRO"

RESUMO

As plaquetas desempenham um papel crítico na hemostasia e na reparação dos tecidos. Embora estas sejam apontadas como principais funções, as plaquetas também intervêm na progressão do cancro ao favorecer a proliferação e a metastização das células tumorais.

A interação das plaquetas com as células tumorais inspirou a comunidade científica a desenvolver sistemas de entrega de agentes terapêuticos (fármacos e ácidos nucleicos), num contexto de terapia dirigida. Plaquetas nativas e nanopartículas revestidas por membrana citoplasmática de plaquetas (sistemas biomiméticos) demonstraram ser capazes de vetorizar a terapêutica para o alvo e, consequentemente limitar ligações não específicas responsáveis pelos inúmeros efeitos secundários da terapêutica convencional. Além disso, uma vez que as plaquetas apresentam um mRNA dinâmico em resposta a estímulos de células tumorais surgiu o interesse enquanto fonte de biomarcadores para o diagnóstico precoce e/ou monitorização da terapêutica do cancro.

Nesta revisão, exponho os vários estudos publicados que fundamentam a hipótese das plaquetas como uma ferramenta de diagnóstico e terapêutica na área da oncologia.

Palavras-chave: plaquetas, sistemas de entrega, plaquetas nativas, sistemas biomiméticos, terapia dirigida, diagnóstico, monitorização da terapêutica, cancro.

ABSTRACT

Platelets play a critical role in hemostasis and tissue repair. Although these pointed out as the main functions, platelets also intervene in the progression of cancer by favoring the proliferation and metastasis of tumor cells.

The interaction of platelets with tumor cells inspired the scientific community to develop systems for the transport of therapeutic agents (drugs and nucleic acids) in a context of targeted therapy. Native platelets and nanoparticles coated with platelet cytoplasmic membrane (biomimetic systems) have been shown to behave as a targeted therapy and, consequently, limit non-specific bonds responsible for the numerous side effects of conventional therapy. In addition, their interest arose as a source of biomarkers for early diagnosis and/or monitoring of cancer therapy, because platelets present a dynamic mRNA in response to tumor cell stimuli.

In this review, I intend to present the various published studies that support the hypothesis of platelets as a diagnostic and therapeutic tool in the field of oncology.

Keywords: platelets, delivery systems, native platelets, biomimetic systems, targeted therapy, diagnosis, therapeutic monitoring, cancer.

ABREVIATURAS

DOX Doxorrubicina

iRNA RNA de Interferência

NP-P NanoPartícula revestida por membrana citoplasmática de Plaqueta

siRNA iRNA de cadeia pequena

1. INTRODUÇÃO

O cancro é um grave problema de saúde pública. Não se cinge apenas ao doente oncológico, com impacto físico, psicológico e social, mas também ao ambiente familiar, à sociedade e ao Estado [1].

Uma doença multifatorial e complexa caracterizada por uma proliferação celular descontrolada. Em condições fisiológicas, o número de células de cada tecido, adaptado às respetivas necessidades, mantém-se devido ao equilíbrio entre a divisão celular e a apoptose - morte celular programada. Todavia, as células tumorais têm a capacidade de escapar aos sinais de apoptose, traduzindo-se num crescimento celular anormal [2].

O cancro pode não resultar apenas de uma mera alteração genética, mas de múltiplos comportamentos culturais e pessoais aliados a esta suscetibilidade individual hereditária [2]. Agentes infeciosos, exposição a radiações ultravioleta e radiações ionizantes, poluição ambiental, consumo de álcool, tabagismo, dieta alimentar, sedentarismo e o envelhecimento são mencionados como fatores de risco [2] [3].

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), o cancro representa a segunda causa de morte mais prevalente em todo o mundo, com cerca de 9,6 milhões de mortes em 2018. Estima-se que mais de 27 milhões de novos casos surgem a cada ano até 2040, equivalente a um aumento de 50% desde 2018 [3].

Face ao panorama mundial é imprescindível encontrar estratégias eficazes para a prevenção, o diagnóstico precoce e o tratamento da doença, por forma a travar o seu impacto negativo. Neste contexto, a comunidade científica tem-se debruçado sobre o potencial das plaquetas como uma possível fonte de biomarcadores e como um promissor sistema de entrega dirigida de fármacos e ácidos nucleicos.

Nesta revisão apresento as diferentes aplicações das plaquetas no cancro, sustentadas por vários estudos, passíveis de serem implementadas na prática clínica, num futuro próximo.

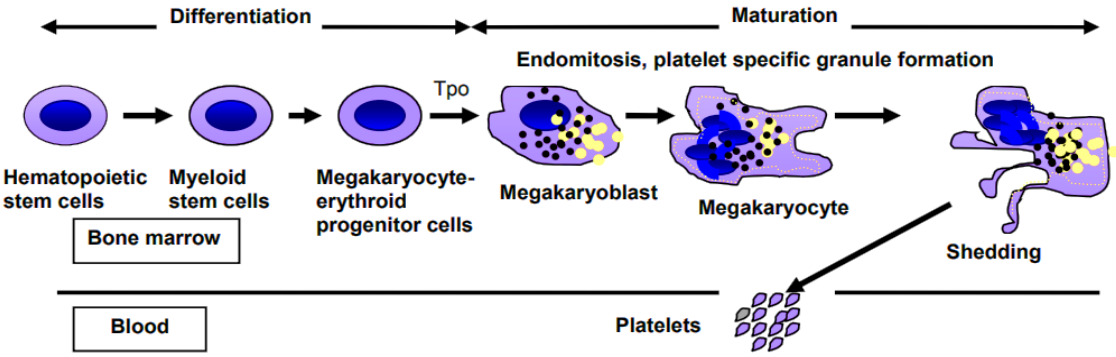
2. PLAQUETAS

As plaquetas constituem o segundo componente celular mais abundante do sangue (150 - 400 x 10^9 plaquetas/L sangue), com um tempo médio de vida em circulação de 9 a 10 dias, findo o qual são removidas pelas células do sistema reticuloendotelial (fígado e do baço) [4].

2.1. PRODUÇÃO DAS PLAQUETAS

As plaquetas são produzidas, diariamente, na medula óssea pela fragmentação do citoplasma de megacariócitos [4].

Da diferenciação da célula estaminal hematopoiética forma-se o megacarioblasto, que por sua vez se diferencia em megacariócitos, por exposição à trombopoetina - sintetizada, essencialmente, no fígado. A maturação dos megacariócitos ocorre por um processo de endomitose. A replicação do ADN não é acompanhada pela divisão do citoplasma daí que os megacariócitos aumentem o seu volume, tornando-se poliploides. Posteriormente, o citoplasma dos megacariócitos torna-se granuloso e geram-se prolongamentos citoplasmáticos. Estas estruturas quando se estendem pelos vasos sinusoides da medula óssea são fragmentados, por forças de cisalhamento, originando as plaquetas (Figura 1) [4] [5].



Legenda: TPO, trombopoetina

Figura 1| Principais etapas da trombopoiese - processo de produção de plaquetas. Adaptado de SHARATHKUMAR, A., SHAPIRO, A. (2008) [6]

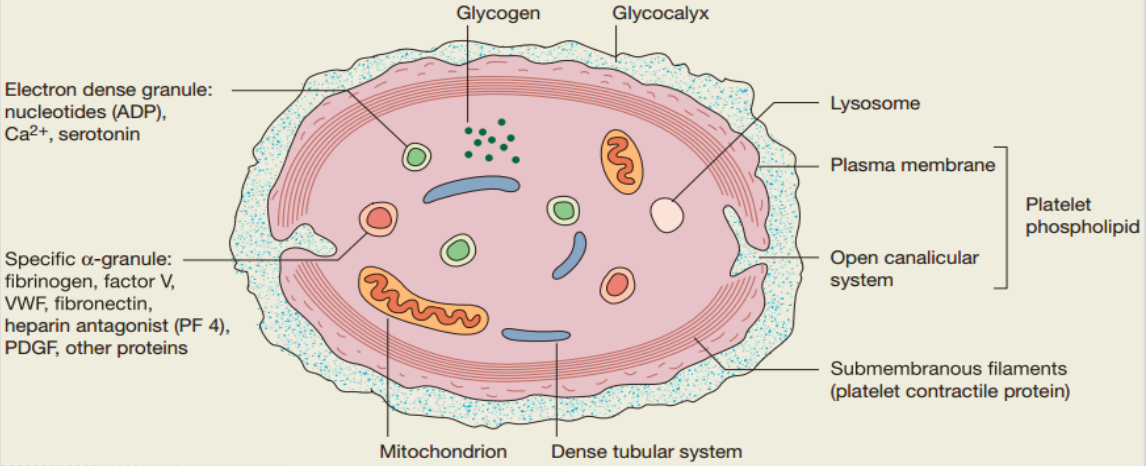
2.2. ESTRUTURA DAS PLAQUETAS

Na corrente sanguínea as plaquetas apresentam-se como corpos citoplasmáticos anucleados, discóides e com um diâmetro médio de 2 a 4 µm [7].

As plaquetas são constituídas por uma membrana plasmática revestida por uma estrutura dinâmica, o glicocálice, que ancora várias glicoproteínas, como por exemplo o complexo GP Ib-IX-V, GP IIb/IIIa, GP IV, essenciais para as interações com o meio envolvente. A bicamada lipídica invagina-se para o interior das plaquetas constituindo o sistema canalicular aberto que proporciona um aumento da área de superfície. Várias proteínas expressas à superfície atuam como antigénios plaquetares e medeiam fenómenos de alo-imunização [4] [8].

A matriz citoplasmática inclui organelos como retículo endoplasmático, complexo de Golgi, mitocôndrias e grânulos de armazenamento (grânulos α , grânulos densos e lisossomas). Os grânulos α, os mais numerosos, contêm fibrinogénio, fator V, fator de Von Willebrand, fibronectina, fator de crescimento derivado das plaquetas e outras proteínas. Os grânulos densos, menos numerosos, incluem adenosina difosfato, adenosina trifosfato, serotonina e cálcio. Os lisossomas contêm enzimas hidrolíticas [4] [8].

As plaquetas também possuem um citoesqueleto, com microfilamentos de actina e um anel de microtúbulos, que assegura a forma discóide e intervém na modificação da mesma, aquando do processo de ativação (Figura 2) [4] [8].



Legenda: ADP, adenosina difosfato; Ca^{2+}, cálcio; PDGF, fator de crescimento derivado das plaquetas; PF, fator plaquetário; VWF, fator de Von Willebrand

Figura 2| Estrutura das plaquetas. A zona periférica compreende o glicocálice e a membrana fosfolipídica, com a membrana citoplasmática e suas invaginações - sistema canicular aberto. Na zona submembranar existe o citoesqueleto, com microfilamentos de actina - proteína contrátil. Na matriz extracelular encontram-se organelos, como mitocôndria, grânulos α , grânulos densos e lisossomas. Adaptado de HOFFBRAND, A.; MOSS, P. (2016) [4]

2.3. FUNÇÕES DAS PLAQUETAS

As plaquetas desempenham um papel crítico na hemostasia ao formarem um tampão mecânico para estancar a hemorragia decorrente do dano vascular e ao colaborar, subsequentemente, na reparação dos tecidos [4].

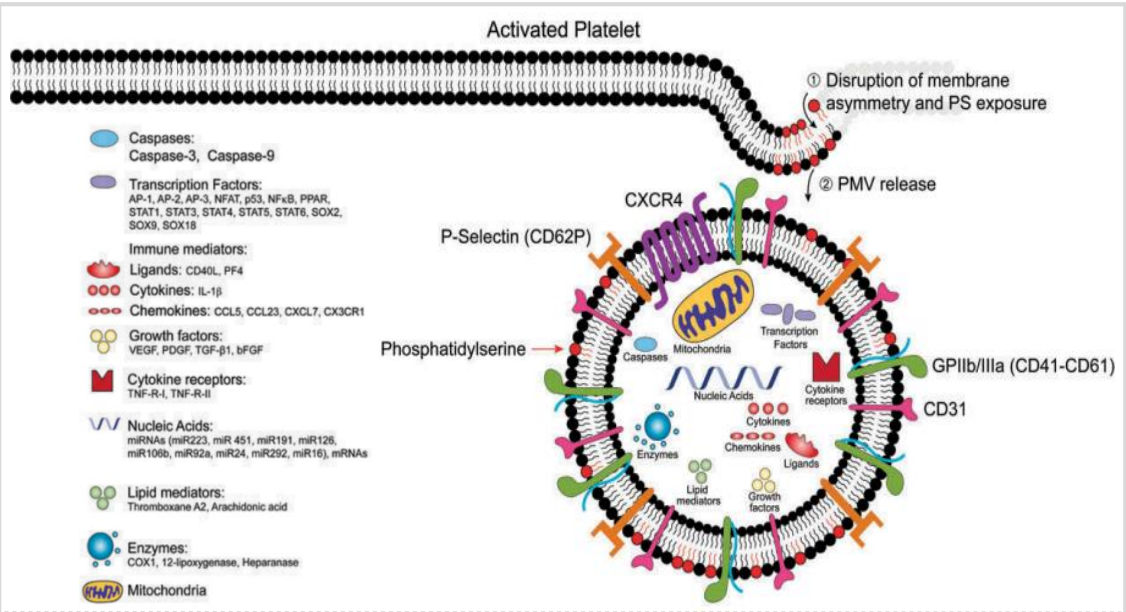
Embora apontada como a principal função, as plaquetas também intervêm na fisiopatologia do cancro [9] - [12].

3. RELAÇÃO CANCRO - PLAQUETAS

A relação entre o cancro e as plaquetas foi descrita pela primeira vez a 1865 por Armand Trousseau. O médico francês observou um estado transversal de híper-coagulação em doentes oncológicos (Síndrome de Trousseau) [13]. Um mecanismo proposto é a interleucina-6 libertada pelas células tumorais estimula a produção de trombopoetina no fígado e, consequentemente promove um aumento do número de plaquetas (trombocitose) [14].

Em 1968, Gasic *et al.* corroborou o postulado inicial ao demonstrar uma redução significativa na formação de metástases tumorais em modelos experimentais aos quais induziu, previamente, uma redução no número de plaquetas (trombocitopenia) através da administração intravenosa de neuraminidase [15].

Apesar de remota, dados mais recentes da literatura científica reforçam a existência de uma conversa cruzada entre as células tumorais e as plaquetas, favorecida pela permeabilidade dos vasos sanguíneos do microambiente tumoral [16]. A etapa chave desta interação é a ativação das plaquetas, por contacto direto (via recetor-ligando) ou indireto (moléculas de sinalização) com as células tumorais. Daqui resulta i) a alteração da forma discóide, do estado quiescente, para uma forma dendrítica, pelo rearranjo das proteínas do citoesqueleto; ii) a desgranulação dos grânulos de armazenamento; e, iii) a formação de microvesículas [12] - vesículas com um diâmetro de 0,1 a 1 μm formadas a partir da membrana citoplasmática (Figura 3) [17] - [20].



Legenda: CXCR-4, recetor da quimiocina CXC tipo 4; GP, glicoproteína; PMV, microvesícula derivada de plaquetas; PS, fosfatidilserina

Figura 3| Microvesículas derivadas da membrana citoplasmática das plaquetas e seus constituintes. Adaptado de MELKI, I. *et al.* (2017) [20]

As microvesículas são geradas não só durante o processo de ativação bem como na apoptose [20] [21]. Descritas pela primeira vez com uma "poeira em torno de plaquetas ativadas" por Peter Wolf em 1967, representam a maioria (70% a 90%) das microvesículas presentes na corrente sanguínea [18] [22] [23] e caracterizam-se por expressarem glicoproteínas à superfície e transportarem componentes citoplasmáticos, como enzimas, citocinas, quimiocinas, mRNAs, das plaquetas de origem, funcionando como mediadores da comunicação intercelular [18] - [21] [24]. As microvesículas fundem-se com a membrana plasmática das células alvo, como as células tumorais [16] [19], libertam o seu conteúdo e induzem alterações no seu fenótipo e função [16] [18] [19] [21].

Tanto as plaquetas como as microvesículas promovem a proliferação e metastização das células tumorais, por intermédio de diferentes mecanismos, de entre eles:

- Desenvolvimento de novos vasos sanguíneos, essenciais para o aporte de nutrientes e oxigénio que sustentam o crescimento celular, por libertação de fatores angiogénicos [25];
- Agregação em torno das células tumorais ("*tumor-induced platelet aggregation*") formando um escudo de proteção das células tumorais ao ataque das células do sistema imunológico e das forças biomecânicas exercidas pelo fluxo sanguíneo [12] [13] [25] [26] [28];
- Indução de um fenótipo invasivo - transição epitelial-mesenquimal, uma modificação morfológica associada à perda de adesão intercelular e, portanto, a uma maior mobilidade das células tumorais para outros tecidos [12] [25] [28].

Estas interações das plaquetas com as células tumorais inspiraram a comunidade científica a utilizar as plaquetas no cancro, tanto na vertente de diagnóstico como de tratamento.

4. PLAQUETAS NO DIAGNÓSTICO DO CANCRO

O diagnóstico precoce do cancro condiciona o sucesso da terapêutica farmacológica. Marcadores moleculares específicos e técnicas de imagens sensíveis são fulcrais na prática clínica, por forma a melhorar os resultados terapêuticos e o prognóstico do doente [26] [29] [30].

Nesta temática, a biopsia - remoção de tecido tumoral para posterior análise patológica- é definida como a técnica *"gold standard"*. Porém acarreta alguns inconvenientes como a dificuldade de colher amostras em alguns tecidos, não retratar a heterogeneidade do

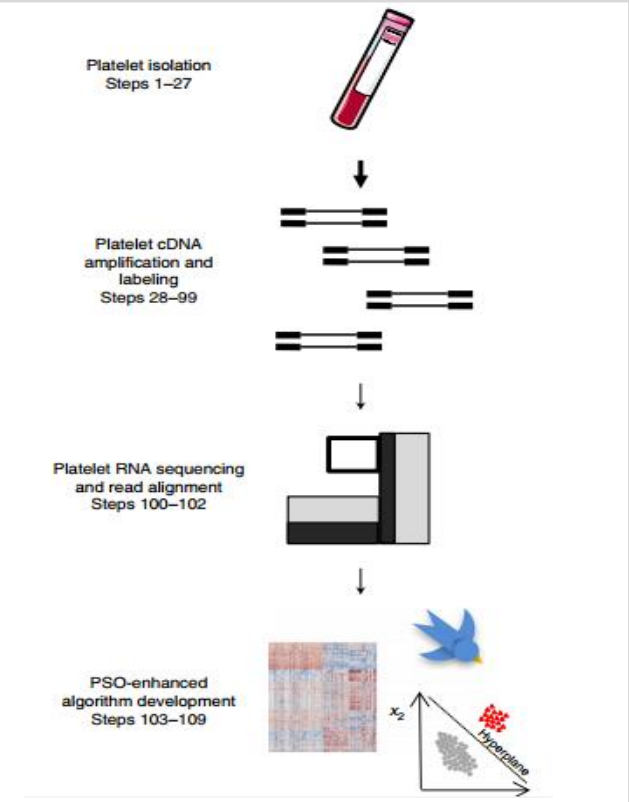
tumor e ser um método invasivo [29] - [32]. Em contrapartida, a pesquisa e a análise de determinadas biomoléculas derivadas do microambiente tumoral no sangue (biopsia líquida - terminologia genérica) conquistou uma atenção particular nos últimos anos, por se tratar de um método minimamente invasivo, seguro, acessível e por refletir a heterogeneidade do tumor. De entre essas biomoléculas destacam-se as células tumorais circulantes, DNA e RNA tumoral e as plaquetas, mais recentemente [33] - [39].

O potencial das plaquetas como ferramenta de diagnóstico assentou em dois pressupostos, para além dos mencionados no ponto 3: i) as plaquetas têm a capacidade de captar passivamente, através do sistema canicular aberto, mRNA de origem tumoral presente na corrente sanguínea; e ii) algumas biomoléculas derivadas das células tumorais, enquanto estímulos externos, podem induzir o mecanismo de *splicing* das plaquetas, conversão do pré-mRNA em mRNA maduro ("*tumor-educated platelets*") [12] [25] [31] [33] [37] [40]. Ou seja, a interação entre estes dois componentes celulares faz com que as plaquetas adquiram um mRNA dinâmico, capaz de refletir o estado de saúde do indivíduo num determinado momento ("*transcriptional fingerprint*") [31] [41].

De forma pioneira, em 2010, Calverley *et al.* demonstrou que o perfil de mRNA das plaquetas de indivíduos com cancro do pulmão diferia do perfil de indivíduos saudáveis [42]. Em 2011, Nilsson *et al.* para além de confirmar as diferenças no perfil de mRNA de plaquetas isoladas de indivíduos com cancro e de indivíduos saudáveis, também demonstrou que indivíduos com gliobastoma e cancro da próstata apresentavam biomarcadores específicos no interior das plaquetas, como mRNA EGFR VIII e PCA3, respetivamente, em detrimento de indivíduos sãos [43]. As conclusões de ambos os estudos foram determinantes para formular a hipótese das plaquetas como potencial fonte de biomarcadores, em específico de mRNA, para o diagnóstico do cancro.

Em 2015 Best *et. al.*, num estudo caso-controlo, sequenciou o mRNA de plaquetas de indivíduos oncológicos e saudáveis, a partir de 283 amostras de sangue. Confirmou o potencial das plaquetas para detetar precocemente a doença - uma precisão de 96% em distinguir 55 indivíduos saudáveis de 228 indivíduos com cancro localizado e/ou metastizado ("*pan-cancer diagnostics*") - para o diagnóstico clínico inicial - uma precisão de 71% em localizar o tumor primário, de entre seis tipos de tumor (cancro do pulmão de não pequenas células, cancro

colorretal, glioblastoma, cancro pancreático, cancro hepatobiliar e cancro da mama ("*multiclass cancer diagnostics*") - e para o diagnóstico complementar ("*companion diagnostics*") - uma precisão de 85% a 95% em determinar o perfil molecular do doente para eventuais ajustes da terapêutica [33]. Em 2019, a técnica intrínseca ao estudo foi otimizada e padronizada (Thromboseq®) proporcionando um melhor desempenho a partir de uma pequena amostra de sangue, apesar de demorada e dispendiosa por requerer múltiplos recursos computacionais (Figura 4) [44].



Legenda: cDNA, DNA complementar; PSO, *Particle-Swarm Optimization*

Figura 4| Técnica Thromboseq® otimizada por PSO. O sangue total colhido em tubos com EDTA é submetido a sucessivas centrifugações. Isolam-se as plaquetas e, posteriormente, o mRNA correspondente. Por transcrição reversa sintetiza-se o cDNA, o qual é amplificado e marcado. O cDNA marcado é sequenciado e submetido ao PSO, um algoritmo informático que seleciona automaticamente os RNAs com maior contributo para a classificação. Adaptado de BEST, M. *et al.* (2019) [44]

Para além dos pontos fortes transversais à biopsia líquida, o estudo do mRNA é vantajoso por ser facilmente isolado e analisado. Também, por se encontrar no interior das plaquetas apresenta uma maior resistência à ação das RNAses presentes na corrente sanguínea e, por consequência, assume níveis mais altos do que os plasmáticos [37] [41].

No presente encontram-se em curso alguns estudos clínicos que incluem a análise do mRNA das plaquetas como método de diagnóstico, ainda que sem quaisquer resultados publicados (NCT 02739867: *Tumor-educated Platelets in Venous Thromboembolism* [45]; NCT 04164134: *New Strategies to Detect Cancers in Carriers of Mutations in RB1(NIRBTEST)* [46], NCT 04022863: *Ovarium Cancer Detection by TEP's and ctDNA* [47]).

Limitações

Outros fatores que não as células tumorais podem modular o perfil de mRNA das plaquetas, como doenças inflamatórias e a administração de fármacos com ação antiplaquetar.

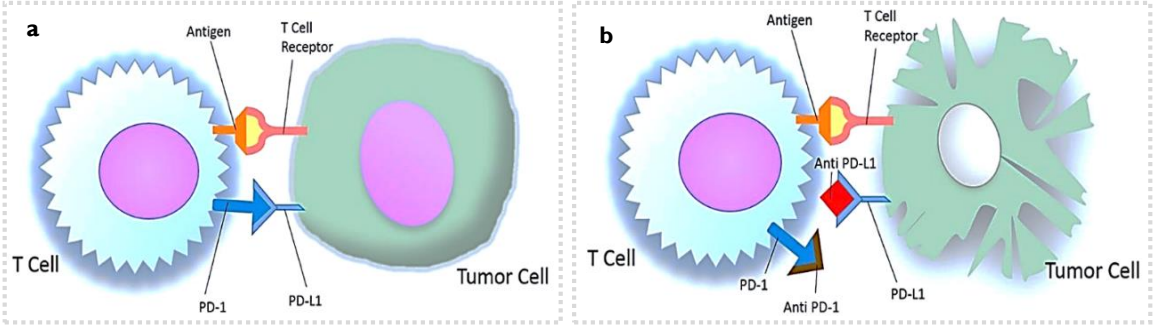
Como possível viés na interpretação dos resultados é necessário investigá-los em paralelo, como variáveis de estudo [34] [36].

5. PLAQUETAS NA TERAPÊUTICA DO CANCRO

A terapêutica convencional do cancro, dissecação cirúrgica, radioterapia e quimioterapia, permanece num impasse tecnológico devido a algumas limitações como o curto tempo de semivida do fármaco; os efeitos adversos graves; a distribuição sistémica dos agentes antineoplásicos não específica; as concentrações inadequadas de fármaco no alvo; o desenvolvimento de mecanismos de resistência pelas células tumorais; e a possibilidade de recorrência do tumor e, subsequente, metastização [7] [48] - [52].

Com vista a colmatar estes inconvenientes vários esforços têm surgido, perspetivando uma terapia mais segura e eficaz.

A imunoterapia, que visa estimular o sistema imunológico do próprio organismo para que as células imunes sejam capazes de reconhecer e eliminar, eficazmente, as células tumorais surgiu como uma alternativa promissora ao tratamento convencional. Neste campo descobriram-se inúmeras moléculas, de entre elas destacam-se os inibidores de *checkpoint* imunológico [53]. O termo *checkpoint* imunológico diz respeito a várias proteínas expressas à superfície das células tumorais e de células imunes, como o PD-L1 e o PD-1 (respetivamente), que funcionam como reguladores negativos da atividade das células T (Figura 5.a). Assim, da inibição destas biomoléculas emerge uma resposta imune eficaz contra as células tumorais (Figura 5.b) [54]. Apesar dos progressos clínicos, são apontados alguns entraves à imunoterapia como efeitos adversos graves decorrentes da ligação inespecífica e da super-ativação do sistema imunológico (risco de doenças auto-imunes); mecanismos de resistência e elevado custo [52] - [54].



Legenda: PD-1, proteína de morte celular programada 1; PDL1, ligando de morte programada 1

Figura 5| Bloqueio de PD-1 ou de PD-L1. (a) A ligação de PD-L1 ao seu recetor, PD-1, inibe a resposta imunológica das células T contra as células tumorais. **(b)** O bloqueio de PD-L1 ou de PD-1 impedirá a interação ligando-recetor e, consequentemente, as células T são capazes de eliminar as células tumorais. Adaptado de CALDWELL, C. *et al.* (2017) [55]

Paralelamente, sistemas de entrega dirigida de fármacos têm sido desenvolvidos com o mesmo propósito, de superar os desafios da terapêutica convencional do cancro. Esta

tecnologia, como o próprio nome indica, pretende vetorizar os agentes antineoplásicos para o local de ação, por forma a garantir concentrações efetivas do fármaco no tumor e diminuir ligações não específicas a outras células, traduzindo-se em ganhos de eficácia e segurança [7] [13]. Daqui surgiram os vetores sintéticos, centrados nos conceitos da nanotecnologia (nanopartículas e nanosistemas) e os vetores biológicos, que tiram partido das capacidades de determinadas células do organismo, como neutrófilos, macrófagos, células tronco, glóbulos vermelhos e plaquetas [7] [13] [49] [56] [57].

5.1. PLAQUETAS COMO SISTEMAS DE ENTREGA DIRIGIDA DE FÁRMACOS

Os sistemas de entrega dirigida de fármacos baseados em plaquetas incluem plaquetas nativas, com fármacos no seu interior ou à superfície (engenharia celular), e nanopartículas revestidas por membrana citoplasmática derivada das plaquetas (NP - P) - sistemas biomiméticos.

A primeira abordagem é considerada como a mais realista e racional para a aplicação clínica [48]. Porém representa a minoria dos estudos como consequência da complexidade e atividade multifatorial das plaquetas [11].

5.1.1. ENGENHARIA CELULAR

A engenharia celular exige a manipulação *ex vivo* de plaquetas, isoladas do sangue total de voluntários, com o objetivo de acoplar à sua superfície ou encapsular no seu citoplasma os fármacos antineoplásicos [58].

In vivo, o sucesso da técnica dependente da ativação das plaquetas pelas células tumorais. É durante esse processo que, de forma controlada, os princípios ativos são libertados para o meio envolvente nas microvesículas e atuam nas células-alvo, comprometendo a sua proliferação e metastização [11].

As características morfológicas, fisiológicas e funcionais das plaquetas fundamentam o seu interesse na terapia celular. De entre elas: i) a grande área de superfície e o tamanho micro proporciona uma carga eficiente de fármacos à superfície ou no interior, respetivamente (em teoria, as plaquetas podem acoplar à superfície 100 vezes e no interior 1000 vezes mais moléculas em comparação ao mesmo número de nanopartículas) [11] [13] [58]; ii) o tempo médio de vida das plaquetas promove um maior tempo de circulação do agente terapêutico (na maioria das vezes curto) [11] [58]; iii) por se tratar do segundo componente celular mais abundante do sangue e por ter uma produção contínua garante uma fonte de acesso fácil e

sustentável [7] [58]; iv) a capacidade de ultrapassar barreiras biológicas, como a barreira hematoencefálica permite o acesso da terapêutica ao sistema nervoso central [11] [27]; v) o tropismo natural para as células tumorais e suas interações favorece o direcionamento da terapêutica para o alvo e, consequentemente, os efeitos adversos associados à ligação não específica a outras células são minimizados [13], a concentração de agente terapêutico a transportar será menor e o início de ação farmacológica será mais rápido [13] [59]. De um modo geral, a farmacocinética da terapêutica pode ser significativamente alterada após a sua acoplação / incorporação nas plaquetas [58] [59].

Adicionalmente, maior biocompatibilidade, maior biodegradabilidade e menor imunogenicidade é observada com as plaquetas por se tratarem de constituintes dos organismos vivos, em detrimento do material sintético que é utilizado nas formulações de nanopartículas/nanosistemas [11] [13] [58] [60].

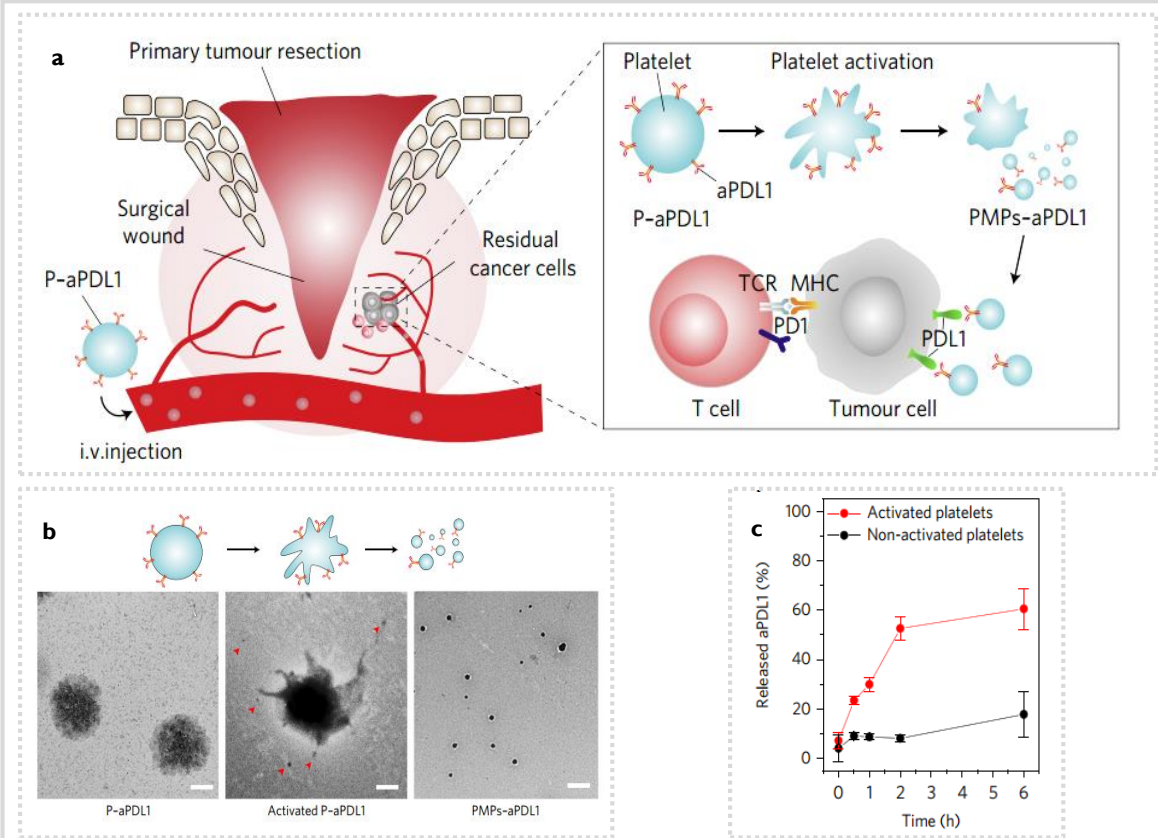
5.1.1.1. Ligação de fármacos na superfície das plaquetas

Por intermédio de uma ligação química pode-se estabelecer o acoplamento da terapêutica às plaquetas, com a vantagem de controlar com precisão o número de moléculas ativas conectadas ao transportador [7]. Grupos tióis e aminas primárias são abundantes na superfície das plaquetas e estão prontamente disponíveis para a ligação química [58] [61].

Wang *et al.* conjugou covalentemente anticorpos monoclonais anti-ligando de morte celular programada 1 (aPDL1) à superfície das plaquetas (P-aPDL1) e administrou por via intravenosa a murganhos portadores de melanomas parcialmente removidos cirurgicamente (Figura 6.a). O estudo objetivava avaliar o potencial do P-aPDL1 na prevenção da recorrência do tumor após a dissecação cirúrgica, tendo como premissa o tropismo das plaquetas para a lesão vascular, gerada pelo procedimento cirúrgico, para além da sua afinidade para as células tumorais [62].

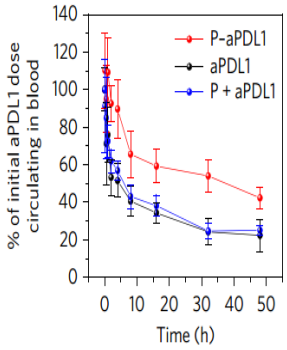
Com ensaios *in vitro* o grupo verificou que a libertação do aPDL1 ocorria após a ativação das plaquetas associado às microvesículas e em maior extensão (Figura 6.b,c). *In vivo*, observou que P-aPDL1 aumentou o tempo de semivida do fármaco (Figura 7); concentrou-se em maior quantidade no local da ferida cirúrgica/tumor residual (Figura 8.a); diminuiu o tamanho do tumor (Figura 8.b); diminuiu a metastização pulmonar (Figura 8.c); e aumentou significativamente a sobrevivência dos murganhos (Figura 8.d), quando comparado com o aPDL1 livre [62].

Os resultados sugerem a utilidade das plaquetas como meio de entrega dirigida e controlada de aPDL1 para diminuir o risco de recorrência e metastização tumoral inerente à dissecação cirúrgica.



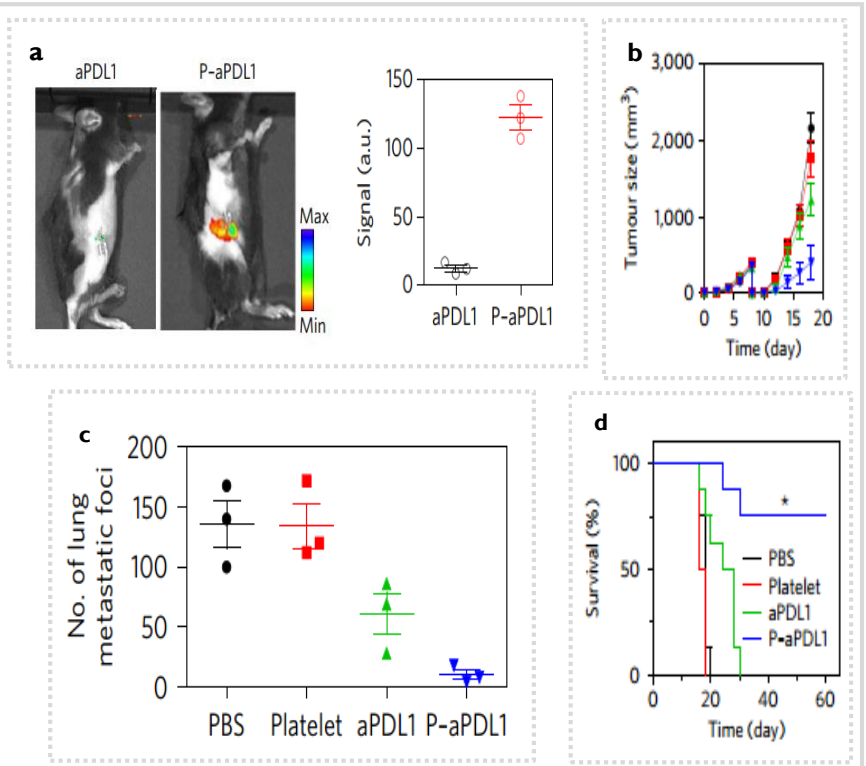
Legenda: aPDL1, anticorpo anti-ligando de morte programada 1; i.v, intravenosa; MHC, complexo *major* de histocompatibilidade; P, plaqueta; PD-1, proteína de morte celular programada 1; PDL1, ligando de morte programada 1; PMPs, microvesículas derivadas de plaquetas; TCR, recetor de células T

Figura 6| Ativação de P-aPDL1 com libertação de aPDL1. **(a)** Ilustração esquemática da entrega dirigida de aPDL-1 por plaquetas no local de ressecção parcial (cerca de 99%) do tumor. **(b)** Imagens de microscopia de transmissão eletrónica de P-aPDL1 antes (esquerda) e após (meio e direita) ativação *in vitro* com trombina. A ativação gerou um grande número de microvesículas (setas vermelhas) e a alteração da morfologia das plaquetas. **(c)** Percentagem de aPDL1 libertado de plaquetas ativadas (vermelho) e não ativadas (preto), ao longo do tempo. A libertação de aPDL1 foi significativamente maior nas plaquetas ativadas. Adaptado de Wang, C., *et al.* (2017) [62]



Legenda: aPDL1, anticorpo anti-ligando de morte programada 1; P, plaqueta

Figura 7| Evolução temporal dos níveis de aPDL1 na corrente sanguínea após a administração intravenosa de P-aPDL1 (vermelho), aPDL1 livre (preto) ou uma mistura de plaquetas e aPDL1 (azul) a murganhos saudáveis, em três experiências independentes e com doses equivalentes de fármaco. O tempo de semivida de aPDL1 aumentou significativamente no grupo de ensaio P-aPDL1 (34,8h) em comparação ao grupo aPDL1 livre (5,2h) e ao grupo P + aPDL1 (5,5h). Adaptado de Wang, C., *et al.* (2017) [62]



Legenda: aPDL1, anticorpo anti-ligando de morte programada 1; P, plaqueta; PBS, tampão fosfato; *, P <0.05

Figura 8| Efeitos da administração intravenosa de uma dose única de PBS, plaquetas, aPDL1 livre ou P-aPDL1 a murganhos com melanoma parcialmente removido cirurgicamente (B16F10). (a) Imagiologia de fluorescência (aPDL1 marcado com Cy5.5) dos murganhos após 2h da administração de P-aPDL1 ou aPDL1 livre, numa dose equivalente. O sinal de fluorescência de aPDL1 em torno da ferida cirúrgica/tumor residual foi maior quando acoplado à superfície das plaquetas (intensidade de fluorescência média 9,4 vezes superior ao aPDL1 livre). **(b)** Monitorização do tamanho do tumor ao longo do tempo. **(c)** Número de focos metastáticos no pulmão. **(d)** Curva de sobrevivência. Após 60 dias da administração no grupo de ensaio P-aPDL1 a sobrevivência dos murganhos era cerca de 75%. Nos restantes grupos de ensaio nenhum murganho sobreviveu para além do dia 30. Adaptado de Wang, C., *et al.* (2017) [62]

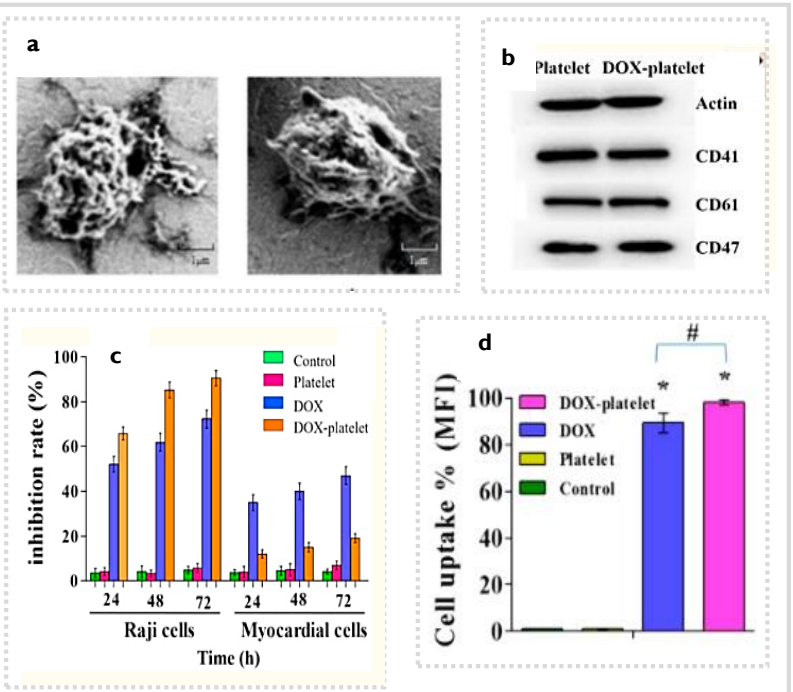
5.1.1.2. Encapsulação de fármacos no citoplasma das plaquetas

A eletroporação é um método que, por aplicação de um campo elétrico de alta intensidade, aumenta a permeabilidade da membrana citoplasmática por formação de poros membranares permitindo a incorporação de pequenas moléculas no citoplasma. Um método simples, com baixa toxicidade, alta eficiência e reduzido dano celular [7] [58]. Uma alternativa à eletroporação é a fagocitose de agentes terapêuticos pelas plaquetas, decorrente da sua capacidade de captar passivamente múltiplas substâncias do meio envolvente através do sistema canicular aberto [25] [58].

A encapsulação de fármacos no interior das plaquetas é vantajosa porque garante a proteção do ativo e, consequentemente diminui a sua velocidade de eliminação do organismo,

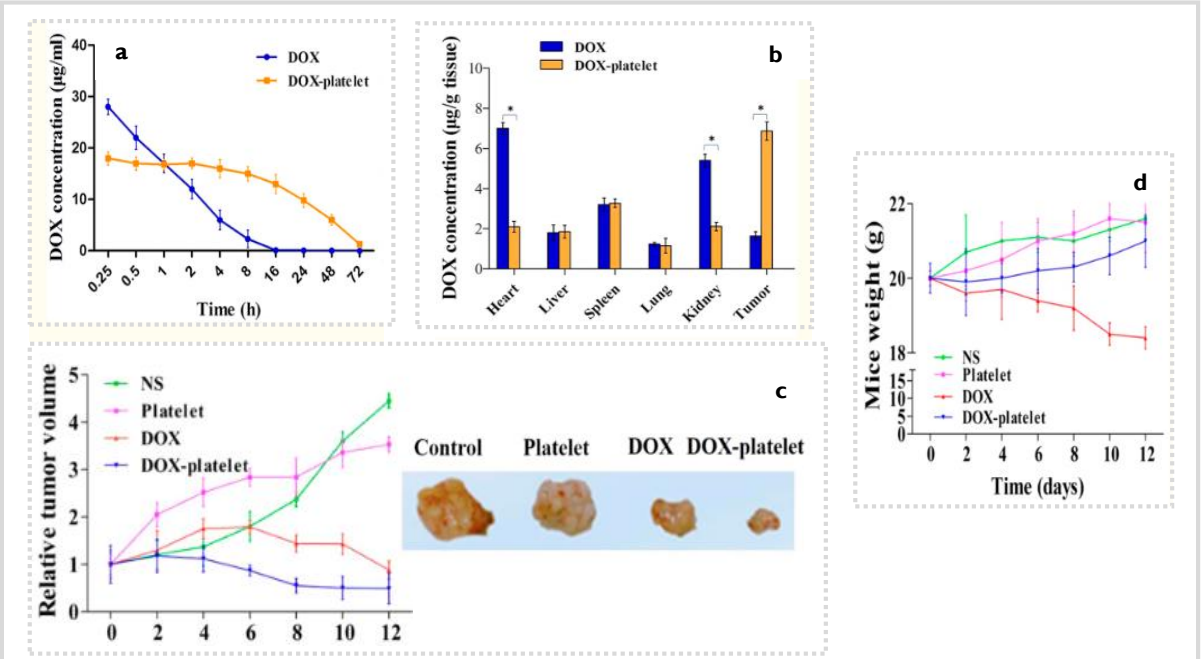
traduzindo-se num maior tempo de circulação [7] [13]. Em contrapartida, é apontado como desvantagem a carga desigual de fármaco encapsulado [63].

O grupo de Ouyang *et al.* foi dos primeiros a utilizar as plaquetas como transportador de doxorrubicina (DOX) para o tratamento do linfoma (P-DOX). Com ensaios *in vitro* verificou que a encapsulação da DOX era eficiente e não induzia alterações significativas na morfologia e na função das plaquetas (Figura 9.a,b); havia uma menor cardiotoxicidade (Figura 9.c) e um maior *uptake* da DOX acompanhado de maior inibição do crescimento das células tumorais (Figura 9.d). *In vivo*, o tempo de semivida do fármaco aumentou consideravelmente (Figura 10.a); a vectorização para o alvo foi significativamente maior - concordante com os dados *in vitro* (Figura 10.b); houve uma maior redução do tamanho do tumor (Figura 10.c) e a diminuição do peso corporal foi menos pronunciada no grupo de estudo P-DOX em relação ao grupo de estudo DOX-livre (Figura 10.d) [64].



Legenda: DOX, doxorrubicina; MFI, intensidade de fluorescência média, * P <0,05 em comparação ao controlo, # P <0,05

FIGURA 9| Efeitos *in vitro* da DOX encapsulada em plaquetas. (a) Imagens de microscopia eletrónica de varrimento antes (esquerda) e após (direita) o encapsulamento de DOX nas plaquetas. Nenhuma diferença significativa foi observada entre as imagens. **(b)** Análise das proteínas de superfície das plaquetas por Western-blot, antes (coluna da esquerda) e após (coluna da direita) o encapsulamento de DOX. As P-DOX não apresentaram alterações significativas em comparação com as plaquetas nativas. **(c)** Avaliação da citotoxicidade em células tumorais (células Raji) e células do miocárdio após 24h, 48h e 72h de incubação com diferentes tratamentos: controlo, sem tratamento (verde); plaquetas (rosa); DOX livre (azul) e P-DOX (laranja). Maior citotoxicidade para as células tumorais pelo P-DOX e maior cardiotoxicidade pela DOX livre, em todos os tempos de incubação. **(d)** Captação intracelular de DOX em células Raji após 24h de incubação com diferentes tratamentos: controlo, sem tratamento (verde), plaquetas (amarelo), DOX livre (roxo) e P-DOX (rosa). O *uptake* de DOX foi significativamente maior no grupo de P-DOX do que DOX livre - o que justifica a maior citotoxicidade para as células tumorais observada em c. Adaptado de Ouyang, J. *et al.* (2017) [64]



Legenda: DOX, doxorrubicina; * P <0,05

FIGURA 10| Efeitos *in vivo* da DOX encapsulada em plaquetas, em murganhos portadores de tumor por administração subcutânea de células de Raji. (a) Concentração de DOX em amostras de sangue colhidas por punção cardíaca após 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16; 24; 48 e 72 h da administração intravenosa de DOX livre (azul) ou P-DOX (laranja). A DOX livre foi eliminada rapidamente do sangue, $t_{1/2}$ = 1,89 ± 0,53 h, ao passo que a P-DOX apresentou um tempo de circulação mais longo $t_{1/2}$ = 29,12 ± 1,13 h. **(b)** Distribuição de DOX nos tecidos após 4h da administração de DOX livre (azul) ou P-DOX (laranja). A concentração de P-DOX era significativamente maior no tecido tumoral e significativamente menor no tecido cardíaco quando comparada com a DOX livre. **(c)** Variação do volume relativo do tumor num período de 12 dias (esquerda) e tamanho final da massa tumoral (direita) após a administração dos diferentes tratamentos: controlo (verde); plaquetas (rosa); DOX livre (vermelho) e P-DOX (azul). **(d)** Variação do peso corporal num período de 12 dias após a administração dos diferentes tratamentos: controlo (verde); plaquetas (rosa); DOX livre (vermelho) e P-DOX (azul). O peso inicial dos murganhos era de 20 g. O peso final dos murganhos foi de 21,6 g; 21,5 g; 18,4 g e 21 g, respetivamente. Adaptado de Ouyang, J. *et al.* (2017) [64]

Outros investigadores reforçaram a hipótese das plaquetas enquanto transportador de fármacos antineoplásicos, com ganhos em segurança e eficácia, como Sarkal *et al.* [59] e Xu *et al.*, que para além do encapsulamento de DOX nas plaquetas, acoplaram à superfície um anticorpo monoclonal anti-CD22, para um acréscimo na precisão de vectorização da terapêutica ao alvo [65].

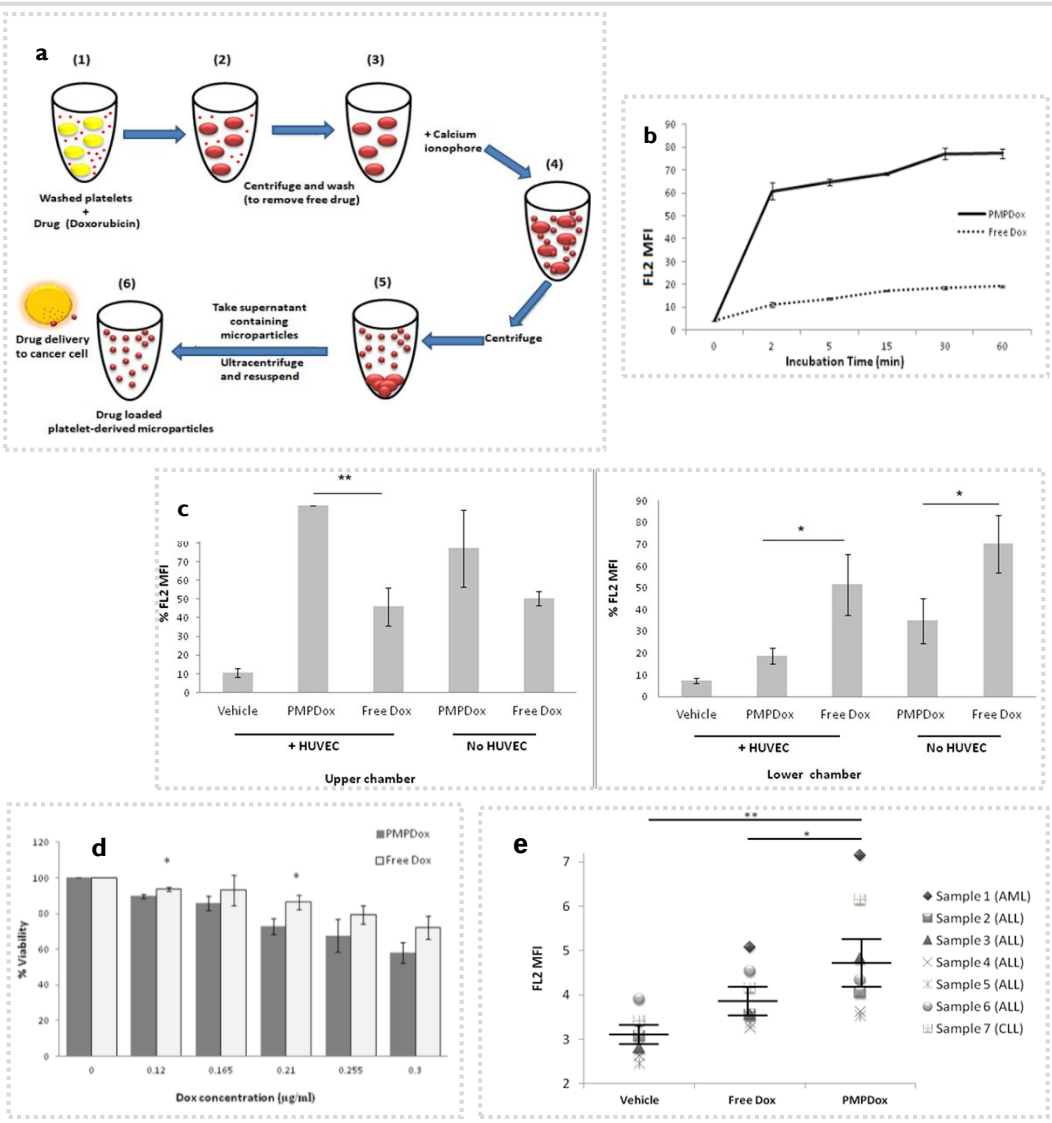
Limitações

A ativação precoce das plaquetas afeta a eficácia da terapêutica por promover uma libertação dos componentes ativos antes do alvo farmacológico [53] [58]. Isto pode resultar das manipulações *ex vivo* implícitas na técnica [7] [60] ou no próprio organismo devido a uma lesão vascular, uma vez que constitui um outro estímulo para a ativação das plaquetas [12]. Com vista a ultrapassar este obstáculo alguns autores validam a aplicação das microvesículas derivadas de plaquetas como vetores em detrimento das plaquetas nativas. Partem do princípio que, por

controlo técnico, as plaquetas podem ser ativadas por exposição a agonistas (cálcio, ADP, trombina) e gerar microvesículas em grande número [7]. Kailashiya *et al.* através de um método rápido (4 a 5h) e simples (com poucos reagentes) demonstrou que microvesículas carregadas com DOX (Figura 11.a) exibiam uma entrega dirigida de DOX (Figura 11.b,e), menor ligação fora do alvo (Figura 11.c) e uma maior toxicidade para as células tumorais (Figura 11.d) do que a DOX livre [51].

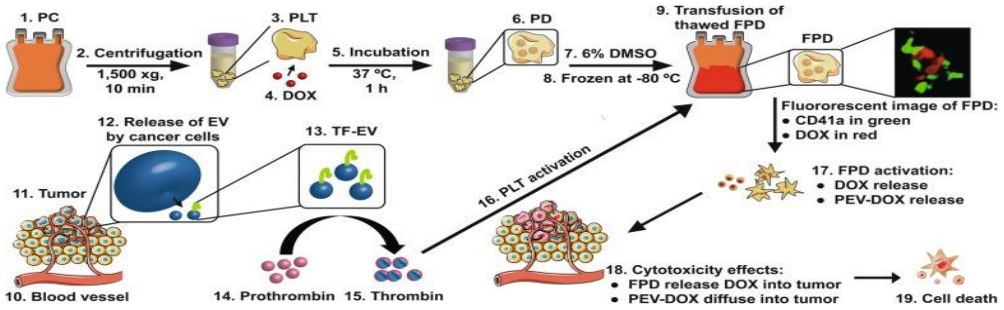
Também como uma limitação é identificado o risco de contaminação biológica e o reduzido tempo de vida útil durante o armazenamento dos produtos de plaquetas [9] [11] [13] [53] [58] [63]. Recentemente, Wu *et al*. comprovou que plaquetas carregadas com DOX preservavam o seu potencial na terapêutica do cancro após o seu armazenamento a -80 °C com dimetilsulfóxido a 6% (Figura 12) [48]. Assim, a criopreservação poderá ser uma estratégia viável para a conservação destes produtos.

Por último, o risco de rejeição de plaquetas alogénicas por parte do organismo recetor comprometerá a sua aplicação clínica porque a resposta de alo-imunização limitará a eficácia do sistema. Este problema poderá ser superado pela utilização de plaquetas do próprio doente, num contexto de medicina personalizada [9] [60].



Legenda: ALL, leucemia linfocítica aguda; AML, leucemia mieloide aguda; CLL, leucemia linfocítica crónica; DOX, doxorrubicina; MFI, intensidade de fluorescência média; PMP, micropartícula derivada de plaquetas; * $p < 0,05$; ** $p < 0.001$

FIGURA 11| Eficácia e segurança de microvesículas derivadas de plaquetas como sistemas de entrega dirigida de fármacos a células tumorais. (a) Etapas do método de preparação de micropartículas derivadas de plaquetas carregadas com DOX. **(b)** Captação intracelular de DOX, ao longo do tempo, após a incubação de células tumorais (HL 60) com DOX livre (linha a tracejado) ou PMP-DOX (linha contínua). Ao fim de 60 min de incubação, verificou-se uma fluorescência cerca de 7 vezes superior no grupo de tratamento PMP-DOX relativo ao grupo DOX livre. **(c)** Avaliação da ligação fora do alvo da DOX pelo sistema de placas Transwell, constituído por dois compartimentos (superior=meio intravascular; inferior=meio extravascular), ambos com células HL 60, separados por uma membrana porosa, revestida com ou sem células HUVEC, que mimetiza o endotélio. A DOX livre, PMP-DOX ou meio de cultura (controlo) foram introduzidos no compartimento superior e a ligação fora do alvo foi avaliada pela quantificação da DOX no interior das células tumorais do compartimento inferior. A PMP-DOX acumulou-se preferencialmente no compartimento superior (maior captação no alvo) e menor no compartimento inferior (menor fuga extravascular), quando comparada com a DOX livre. **(d)** Toxicidade da DOX livre (barras brancas) e de PMP-DOX (barras cinzentas), em diferentes concentrações, nas células HL 60, avaliada pelo ensaio MTT. O PMP-DOX nas concentrações de 0,12 µg / mL e 0,21 µg / mL foi significativamente mais tóxico para as células tumorais do que DOX livre. **(e)** Captação intracelular de DOX, após 1h de incubação de DOX livre ou PMP-DOX com sangue total de indivíduos com diagnóstico prévio de leucemia. O *uptake* de DOX nas células tumorais foi significativamente maior com PMP-DOX do que DOX livre. Adaptado de KAILASHIYA, J. *et al.* (2019) [51]



Legenda: DMSO, dimetilsulfóxido; DOX, doxorrubicina; EV, vesícula extracelular; FPD, P-DOX criopreservada ; PC, concentrado de plaquetas; PD, plaqueta carregada com doxorrubicina; PEV, microvesícula de derivada de plaqueta; PLT, plaqueta; TF, fator tecidular

FIGURA 12| Eficácia de plaquetas carregadas com DOX criopreservadas na morte de células tumorais. A partir do sangue total de dadores ou do próprio doente com sucessivas centrifugações gera-se o PC (1), do qual se isolam as PLT (2,3). As PLT são suspensas numa solução PAS com DOX (4), sujeita a 35 rpm durante 1h a 37 °C (5), favorecendo o movimento passivo da DOX para o interior da PLT (6). As PD são armazenadas a -80° C com DMSO, um crioprotetor (7,8). Mediante uma necessidade, as FPD são descongeladas, transfundidas para o doente (9) e pela corrente sanguínea as PD atingem o microambiente tumoral (10,11). As células tumorais libertam TF-EV (12,13) que promove a conversão de protrombina, presente em circulação, em trombina (14,15) e, consequentemente, ativam as PD(16). Da ativação resulta a libertação de DOX e PEV-DOX (17), responsáveis pela morte das células tumorais (18,19). Adaptado de Wu, Y. *et al.* (2020) [48]

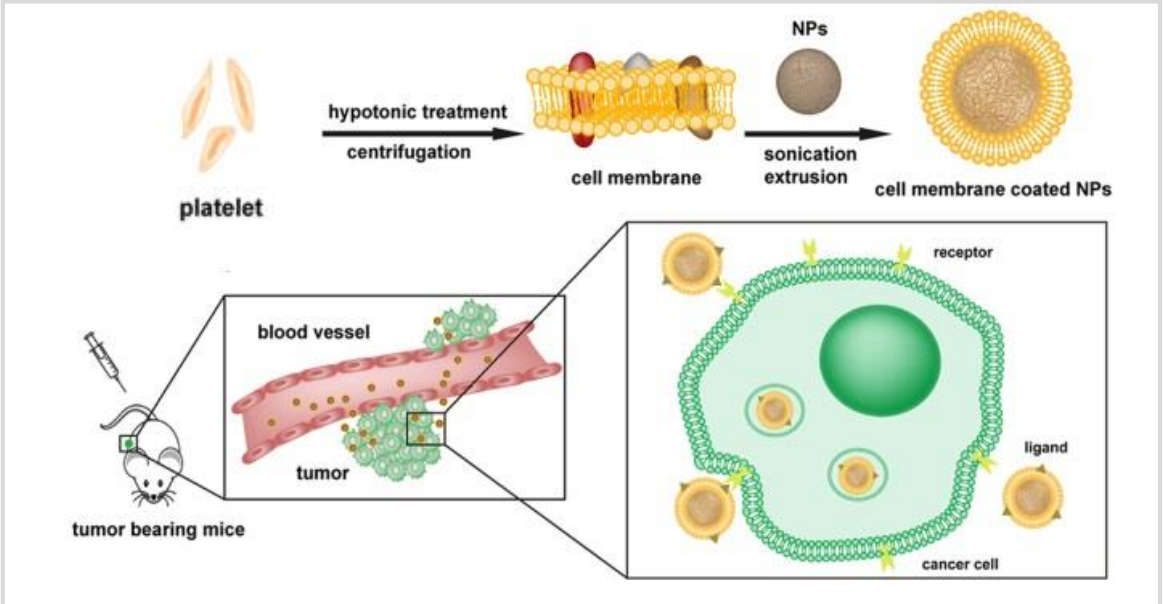
5.1.2. NANOPARTÍCULAS REVESTIDAS POR MEMBRANA CITOPLASMÁTICA DE PLAQUETAS

A nanotecnologia teve um importante impacto na terapêutica do cancro ao desenvolver vetores em escala nano (1 a 1000 nm), como lipossomas e micelas poliméricas, para o transporte de fármacos [51] [56]. Em comparação à terapêutica convencional, os nanoveículos melhoram a solubilidade e estabilidade dos compostos ativos, prolongam o tempo de circulação e proporcionam uma libertação controlada, sustentada e dirigida ao alvo, minimizando efeitos adversos [7] [13] [56] [66].

No entanto, a nanomedicina ainda é um desafio em alguns aspetos. As nanopartículas são rapidamente eliminadas da circulação ao serem reconhecidas como corpos estranhos pelo sistema imunológico [12] [13] [56] [57] [66]. Apesar da modificação com poli(etilenogligol) (PEG) tenha sido uma estratégia para aumentar o seu tempo em circulação, anticorpos anti-PEG poderão ser produzidos mediante uma administração repetida destas nanopartículas aos doentes [56]. Também, análises estatísticas apontam que somente 0,7% dos fármacos veiculados em nanopartículas alcançam os tumores [57].

Face aos desafios da nanotecnologia, NP-P, denominadas de sistemas biomiméticos, surgiram como uma solução inovadora, que tira partido das potencialidades da nanotecnologia

e das estruturas biológicas [67] [68]. A técnica requer, numa primeira fase, o isolamento da membrana citoplasmática das plaquetas colhidas do sangue total de voluntários e, de seguida, o revestimento dos núcleos sólidos das nanopartículas, por sonicação e extrusão através de membranas de policarbonato (Figura 13) [57] [58] [69].



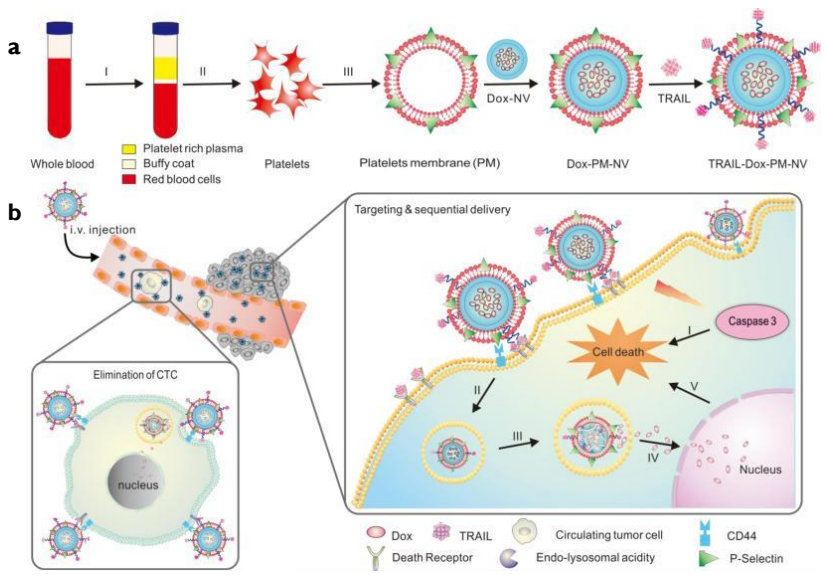
Legenda: NPs, nanopartículas

Figura 13| Revestimento de NP com membrana citoplasmática de plaquetas. As plaquetas isoladas do sangue total são tratadas, previamente, em meio hipotónico para a indução da lise celular, seguindo-se de uma centrifugação para a remoção do conteúdo intracelular. Por fim, o núcleo da nanopartícula é revestido pela membrana isolada, por extrusão e sonicação. Adaptado de LI, R. *et al.* (2018) [69]

Através do revestimento as nanopartículas podem mimetizar o comportamento de transporte celular *in vivo*. Isto é possível porque todas as proteínas de superfície das plaquetas são translocadas e não se restringe apenas à funcionalização com uma ou algumas proteínas, o que pode ser insuficiente para o efeito [10] [11] [58].

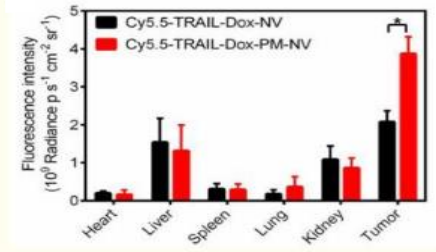
Em 2015, Zhang *et al.* observou que NP-P apresentavam maior tempo de circulação do que nanopartículas não revestidas. A presença de proteínas imunomodeladoras na membrana de revestimento, como CD47 que evita a fagocitose por macrófagos, e CD55 e CD59 que evita a opsonização pelo sistema complemento, fundamenta o sucedido [67].

Posteriormente, vários autores investigaram o potencial da tecnologia no tratamento do cancro [58] [68] [70] [71]. A título de exemplo, Hu *et al.* revestiu nanopartículas poliméricas carregadas com DOX e conjugou à superfície a proteína TRAIL para um efeito antitumoral sinérgico (Figura 14). As nanopartículas apresentaram uma capacidade acrescida em vetorizar a terapêutica (Figura 15) e maior citotoxicidade para as células tumorais (Figura 16) quando comparadas com as nanopartículas não revestidas [68].



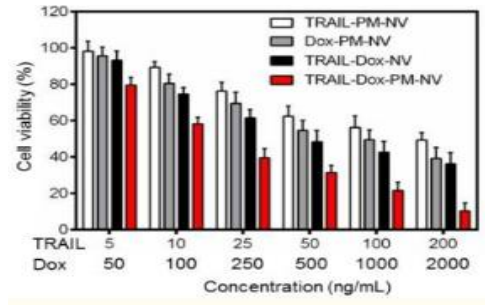
Legenda: DOX, doxorrubicina; PM, membrana citoplasmática derivada de plaquetas; NV, nanoveículo; TRAIL, *TNF-related apoptosis-inducing ligand*; CTC, células tumorais circulantes

FIGURA 14| Revestimento de nanopartículas carregadas com DOX com membrana citoplasmática de plaquetas e associação da proteína TRAIL à superfície (TRAIL-DOX-PM-NV). (a) I. Centrifugação do sangue total; II. Isolamento de plaquetas; III. Isolamento da membrana citoplasmática das plaquetas. **(b)** Eliminação de CTC *in vivo* através da entrega dirigida e sequencial de TRAIL e DOX pelo NV. I. Interação do TRAIL – *Death Receptors* ativa vias de sinalização de apoptose. II. Internalização do TRAIL-DOX-PM-NV em endossomas; III. Dissociação mediada pelo pH ácido do endossoma; IV. Libertação de DOX para o núcleo das CTC; IV. Ativação de mecanismos de apoptose. Adaptado de Hu, Q. *et al.* (2015) [68]



Legenda: DOX, doxorrubicina; PM, membrana citoplasmática derivada de plaquetas; NV, nanoveículo; TRAIL, *TNF-related apoptosis-*

Figura 15| Capacidade de direcionamento tumoral do TRAIL-DOX-PM-NV (vermelho) e TRAIL-DOX-NV (preto), marcado com Cy 5.5, após administração intravenosa a murganhos portadores de tumor. A intensidade de fluorescência no tumor do NV revestido foi significativamente maior do que a do NV não revestido. Adaptado de Hu, Q. *et al.* (2015) [68]



Legenda: DOX, doxorrubicina; PM, membrana citoplasmática derivada de plaquetas; NV, nanoveículo; *TRAIL, TNF-related apoptosis-inducing ligand*

Figura 16| Citotoxicidade do TRAIL-PM-NV (branco), DOX-PM-NV (cinza), TRAIL-DOX-NV (preto) e TRAIL-DOX-PM-NV (vermelho) após 24h de incubação com células tumorais (MDA-MB-231), avaliada pelo ensaio MTT. O TRAIL-DOX-PM-NV apresentou uma citotoxicidade superior, em todas as concentrações de TRAIL e DOX analisadas, em comparação com os restantes tratamentos. Adaptado de Hu, Q. *et al.* (2015) [68]

Em termos gerais, os resultados *in vitro* e *in vivo* dos diferentes estudos evidenciam a utilidade de NP- P por um lado por aumentarem o tempo de circulação, ao reduzir a resposta do sistema imunológico inato, e por outro lado por terem uma maior eficácia terapêutica devido ao maior direcionamento para as células tumorais [9] [49] [56] [57].

Limitações

A manutenção da integridade da membrana citoplasmática, imprescindível para a função celular, é o maior desafio. O procedimento de isolamento da membrana pode induzir a desnaturação das proteínas, comprometendo a capacidade de vetorizar a terapêutica para as células tumorais e desencadear imunogenicidade [57].

A alta heterogeneidade das membranas e a dificuldade de síntese das nanopartículas, pela complexidade e baixo rendimento do método, constituem barreiras adicionais à produção em larga escala [50] [57] [69].

Por último, as nanopartículas revestidas não têm a capacidade de "*cross-talk*", tal como as plaquetas nativas, pelo que permanecem biologicamente inertes aos sinais bioquímicos do microambiente tumoral [48].

Pelos motivos mencionados, alguns autores consideram que o uso de plaquetas nativas seja a abordagem mais realista e racional para aplicação clínica [48].

5.2. PLAQUETAS COMO SISTEMAS DE ENTREGA DIRIGIDA DE ÁCIDOS NUCLEICOS

Na década de 90, moléculas de RNA de dupla cadeia com a capacidade de regularem negativamente a expressão de genes, pós-transcrição, foram descobertas e nomeadas de RNA de interferência (iRNA) [72]. Através de um mecanismo robusto, mediado pelo complexo de silenciamento induzido por RNA do citoplasma das células, o iRNA interage com o mRNA complementar comprometendo a tradução do mesmo em proteínas. Com efeito, o gene a partir do qual o mRNA foi transcrito é silenciado [73].

Da família dos iRNA existem pequenos iRNA (siRNA), passíveis de serem produzidos exogenamente, constituídos por 21 a 25 nucleótidos, que provocam a degradação do mRNA complementar.

Os siRNA tornaram-se uma ferramenta útil para o tratamento de múltiplas doenças, como o cancro, porque algumas das moléculas envolvidas nos mecanismos patológicos são tidas como alvos terapêuticos de difícil acesso para os medicamentos convencionais ("*non-*

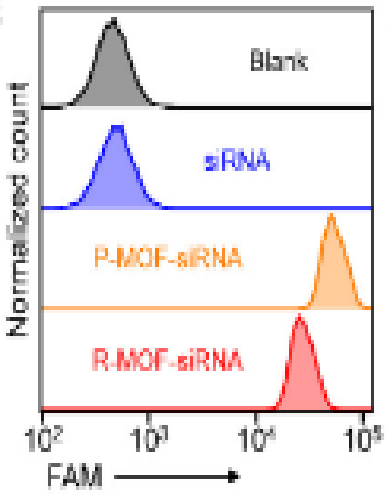
druggable targets"). Múltiplos estudos evidenciam a utilidade do siRNA em silenciar genes envolvidos na proliferação e metastização das células tumorais, bem como na angiogénese e quimioresistência [74]. Porém algumas barreiras limitam a sua utilização mais ampla, como a vulnerabilidade no ambiente biológico devido à degragação de ribonucleases, presentes na corrente sanguínea; o *uptake* sub-ótimo nas células alvo, uma vez que o seu carácter aniónico dificulta a penetração da membrana celular, também ela carregada negativamente; e a possível imunogenicidade [72] [74]. Para superar estas limitações surgiram *a posteriori* formulações de siRNA em nanoveículos, o que veio a melhorar significativamente os resultados terapêuticos, ao aumentar a biodisponibilidade e biocompatibilidade destas moléculas [72].

Mais recentemente, embora que escassos os estudos, suscitou o interesse das NP-P como veículos de siRNA. Zhuang *et al.* revestiu com membrana citoplasmática de plaquetas nanopartículas de estrutura metálica porosa com siRNA complementar do mRNA que codifica a survivina, uma proteína sobre-expressa na maioria dos cancros da mama (P-MOF-siRNA). Dados *in vitro* demostraram que a formulação proporciona uma maior estabilidade do siRNA (Figura 17), um maior *uptake* (Figura 18) e, consequentemente, uma maior citotoxicidade para as células tumorais (Figura 19.a), em virtude de maior diminuição da expressão da proteína (Figura 19.b). Ensaios *in vivo* reforçaram a eficiência do P-MOF-siRNA ao revelarem maior vectorização para o tumor (Figura 20.a), menor tamanho do tumor (Figura 20.b) e maior tempo de sobrevivência (Figura 20.c) no grupo de estudo em comparação com os restantes grupos de análise [72].

Legenda: MOF, *metal-organic framework*; P, plaqueta; siRNA, RNA de interferência de pequena cadeia

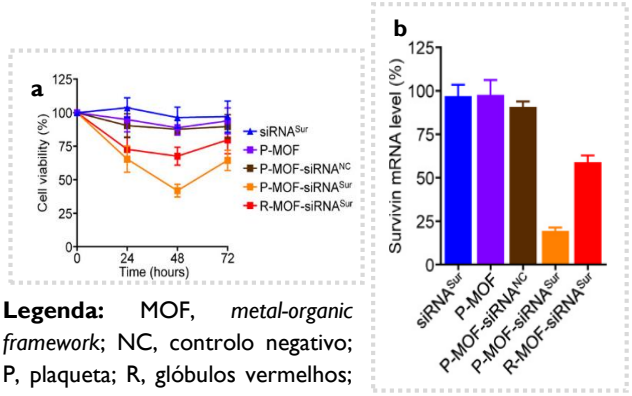
Figura 17| Degradação do siRNA, livre ou no sistema P-MOF-siRNA, por exposição à RNase purificada (a) ou a meio com soro (b), ao longo do tempo. Em ambas as experiências, o siRNA livre é rapidamente degradado pela enzima ao contrário do P-MOF-siRNA. Adaptado de ZHUANG, J. *et al.* (2020) [72]

Genericamente, os resultados do estudo elucidam o potencial das plaquetas em sistemas biomiméticos como veículo de siRNA para o silenciamento de genes fulcrais na progressão de doenças oncológicas ou, eventualmente, para veicular diferentes siRNA no mesmo sistema, como estratégia de melhorar a eficácia terapêutica [72].



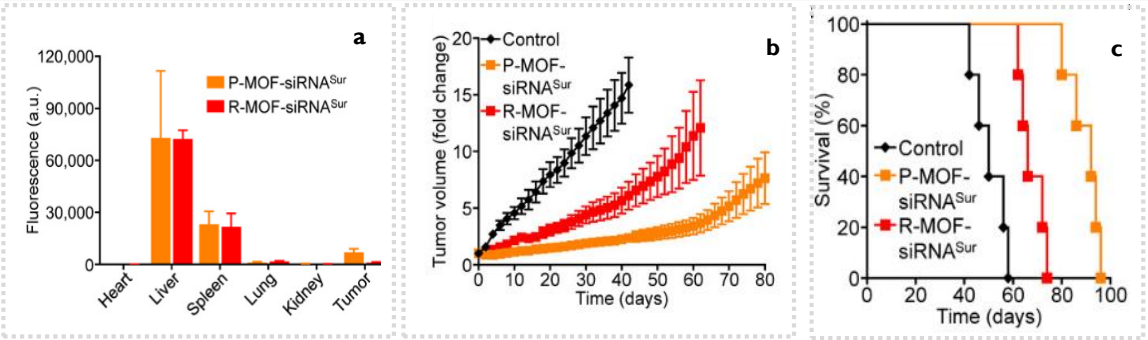
Legenda: FAM, carboxifluoresceína; MOF, *metal-organic framework*; P, plaqueta; siRNA, RNA de interferência de pequena cadeia

Figura 18| Captação intracelular de siRNA, marcado com FAM, por células tumorais (SK-BR-3) após 24h de incubação com siRNA livre (azul) e P-MOF-siRNA (laranja). Por citometria de fluxo é evidente o maior *uptake* do siRNA na formulação ao invés do siRNA livre. Adaptado de ZHUANG, J. *et al.* (2020) [72]



Legenda: MOF, *metal-organic framework*; NC, controlo negativo; P, plaqueta; R, glóbulos vermelhos; siRNA, RNA de interferência de pequena cadeia; Sur, survivina

Figura 19| (a) Viabilidade das células tumorais (SK-BR-3) após 0, 24, 48 e 72h de incubação com siRNA^{Sur} , P-MOF, P-MOF-siRNA^{NC}, P-MOF-siRNA^{Sur} ou R-MOF-siRNA^{Sur}. **(b)** Nível de mRNA^{Sur} em células SK-BR-3 após 48h de incubação com siRNA^{Sur}, P-MOF, P-MOF-siRNA^{NC}, P-MOF-siRNA^{Sur} ou R-MOF-siRNA^{Sur}. Adaptado de ZHUANG, J. *et al.* (2020) [72]



Legenda: MOF, *metal-organic framework*; P, plaqueta; R, glóbulos vermelhos; siRNA, RNA de interferência de pequena cadeia; Sur, survivina

Figura 20| (a) Biodistribuição das nanopartículas após 1h da administração intravenosa de P-MOF-siRNA ^{Sur} (laranja) ou R-MOF-siRNA ^{Sur} (vermelho) a murganhos portadores de tumores. O revestimento com membrana citoplasmática de plaquetas aumentou cerca de 6 vezes os níveis de siRNA^{Sur} nas células tumorais. **(b)** Monitorização do volume do tumor após a administração de P-MOF-siRNA ^{Sur} (laranja) ou R-MOF-siRNA ^{Sur} (vermelho) a murganhos portadores de tumores. **(c)** Curva de sobrevivência. Os murganhos não tratados exibiram uma sobrevivência média de 50 dias. O tratamento com R-MOF-siRNA ^{Sur} e P-MOF-siRNA ^{Sur} prolongou para 66 e 92 dias, respetivamente. Adaptado de ZHUANG, J. *et al.* (2020) [72]

5.3. PLAQUETAS NA MONITORIZAÇÃO DA TERAPÊUTICA

O mRNA das plaquetas, para além de potencial biomarcador de diagnóstico (Ponto 4), também demonstrou ser útil para monitorizar a resposta à terapêutica, em tempo real [25] [30]

[32] [34] [37], uma vez que agentes antineoplásicos poderão modificar o perfil de mRNA das plaquetas [38].

Nilsson *et al*. monitorizou a resposta ao crizotinib num doente com cancro de pulmão de não pequenas células com rearranjo EML4-ALK, durante um período de 30 meses. No início do estudo (2012) foi confirmada a presença de mRNA EML4-ALK nas plaquetas do doente, o qual deixou de ser detetado com o tratamento. Findo alguns anos (2014) o rearranjo EML4-ALK voltou a ser detetado, refletindo o início de mecanismos de resistência pelas células tumorais. Nesse momento, não havia nenhum sinal evidente de progressão do tumor captado por técnicas de imagem, só passados dois meses é que foi obtido. Isto significa que a partir da informação veiculada pelas plaquetas é possível prever a resposta à terapêutica com mais antecedência que as técnicas de imagem, proporcionando aos médicos uma janela de oportunidade para modificar o tratamento e melhorar as decisões clínicas [75].

Na mesma linha de raciocínio, Liu *et al.* identificou alguns mRNA de plaquetas, com uma expressão significativamente aumentada em indivíduos com cancro do pulmão, úteis para monitorizar a terapêutica. A resposta favorável ao tratamento era acompanhada pela diminuição da expressão destes biomarcadores [76].

6. CONCLUSÃO E PERSPETIVAS FUTURAS

A capacidade intrínseca das plaquetas em interagir, direta ou indiretamente, com as células tumorais inspirou a comunidade científica a desenvolver ferramentas de diagnóstico e terapêutica do cancro, nos últimos anos.

O sequenciamento do mRNA das plaquetas, por intermédio da tecnologia otimizada de Best *et al.*, Thromboseq®, parece ser uma estratégia promissora para a deteção precoce, diagnóstico inicial e complementar e para a monitorização da terapêutica. Não descurando das evidências existentes, para que seja possível a sua tradução clínica são necessários estudos adicionais com grupos de ensaio bem caracterizados e de maiores dimensões, incluir outras variáveis de estudo (doenças inflamatórias, fármacos com ação antiplaquetar) e análises mais prolongadas no tempo [34] [36] [37]. Alguns autores consideram ainda, para uma abordagem mais robusta, combinar a leitura do mRNA das plaquetas a outros biomarcadores presentes na mesma amostra de sangue [34] [37].

Quanto aos sistemas de entrega de fármacos e ácidos nucleicos baseados em plaquetas, demonstraram resultados empolgantes em laboratório, ao assumirem maior capacidade de direcionamento para o alvo farmacológico e menores ligações não específicas (maior eficácia

e maior segurança para o doente), de entre outras vantagens. Todavia, levantam algumas questões: (1) Sabendo que as plaquetas, por intermédio de vários mecanismos, promovem a proliferação e metastização das células tumorais, será que o uso das mesmas piorará a doença no Homem? [11] [58] (2) O organismo deve manter um número de plaquetas na corrente sanguínea dentro de um limite de referência para garantir a hemostasia. Será que a administração de plaquetas comprometerá esse equilíbrio? [11]; (3) É possível obter a dosagem pretendida com base na quantidade encapsulada dentro do veículo? [27]. Na tentativa de obter respostas são necessários estudos clínicos para que se consiga analisar o comportamento destes sistemas no Homem. Também será necessária a otimização e a padronização de protocolos para assegurar uma produção em larga escala eficiente e reprodutível, com efeitos *in vivo* consistentes [49].

Concluindo, as plaquetas poderão ter um impacto relevante nas técnicas atuais de diagnóstico e terapêutica do cancro, num futuro próximo, uma vez superados todos os desafios.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MIRANDA, N. *et al.* **- Portugal - Doenças Oncológicas em Números - 2015**. Lisboa: Direção – Geral da Saúde. (2016). [Acedido a 27 de dezembro de 2020]. Disponível na Internet: https://www.dgs.pt/estatisticas-de-saude/estatisticas-de-saude/publicacoes/portugal-doencas-oncologicas-em-numeros-2015-pdf.aspx

2. RABAÇA, C. - **Fisiopatologia Oncológica**. In: MOTA PINTO, A. Fisiopatologia - Fundamentos e Aplicações. 2ª Edição. Lisboa: Lidel - Edições Técnicas, Lda. (2013). ISBN: 978-989-752-008-2. p. 293-316.

3. WILD, C. *et al.* **- World Cancer Report: Cancer research for cancer prevention.** Lyon: International Agency for Research on Cancer. (2020). [Acedido a 27 de dezembro de 2020]. Disponível na Internet: https://www.iarc.fr/featured-news/new-world-cancer-report/

4. HOFFBRAND, A.; MOSS, P. - **Platelets, blood coagulation and haemostasis.** In: Hoffbrand's Essential Haematology 7th Edition. UK: Viley-Blackwell. (2016). ISBN 978-1-118-40867-4. p. 264-277.

5. MACHLUS, K., ITALIANO, J. - **The incredible journey: From megakaryocyte development to platelet formation.** Journal of Cell Biology. 201., 6 (2013) 785-796.

6. SHARATHKUMAR, A., SHAPIRO, A. - **Platelet function disorders. Treatment of Hemophilia**. (2008). 2ª Ed., 19. [Acedido a 29 de dezembro de 2020] Disponível na Internet: http://exodontia.info/files/Treatment_of_H_mophilia_2008._Platelet_Function _Disord ers.pdf

7. DU, Y., CHEN, B. - **Combination of drugs and carriers in drug delivery technology and its development.** Drug design, development and therapy, 13 (2019) 1401–1408.

8. GREMMEL, T. *et al.* - **Platelet Physiology.** Seminars in Thrombosis & Hemostasis. 42., 3 (2016) 191-204.

9. NANDI, S., BROWN, A. - **Platelet-mimetic strategies for modulating the wound environment and inflammatory responses.** Experimental Biology and Medicine (Maywood). 241., 10 (2016) 1138-1148.

10. QUANYIN, H. *et al.* - **Engineering platelet-mimicking drug delivery vehicles.** Frontiers of Chemical Science and Engineering. 11., 4 (2017) 624-632.

11. LI, Z. *et al.* - **Platelets and their biomimetics for regenerative medicine and cancer therapies.** Journal of Materials Chemistry B. 6., 45 (2018) 7354-7365.

12. HYSLOP, S., JOSEFSSON, E. - **Undercover Agents: Targeting Tumours with Modified Platelets.** Trends Cancer. 3.,3 (2017) 235-246.

13. XU, P. *et al.* - **Recent advancements in erythrocytes, platelets, and albumin as delivery systems.** OncoTargets and therapy. 9 (2016) 2873-84.

14. HAEMMERLE, M. *et al.*. - **The Platelet Lifeline to Cancer: Challenges and Opportunities.** Cancer Cell. 33., 6 (2018) 965-983.

15. GASIC, G. *et al.* - **Antimetastatic effects associated with platelet reduction.** Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 61.,1 (1968) 46-52.

16. MICHAEL, J. *et al.* - **Platelet microparticles infiltrating solid tumors transfer miRNAs that suppress tumor growth.** Blood. 130., 5 (2017) 567-580.

17. SEMPLE, J. - **Platelets deliver small packages of genetic function.** Blood. 122., 2 (2013) 155-156.

18. MAUSE, S., WEBER, C. - **Microparticles: protagonists of a novel communication network for intercellular information exchange.** Circulation Research. 107., 9 (2010) 1047-1057.

19. BOILARD, E. - **Platelet-derived nanomedicine targets cancer**. Blood. 130., 5 (2017) 561-562.

20. MELKI, I. *et al.* - **Platelet microvesicles in health and disease.** Platelets. 28., 3 (2017) 214-221.

21. DOVIZIO, M. *et al.* - **Platelets and extracellular vesicles in cancer: diagnostic and therapeutic implications**. Cancer and Metastasis Reviews. 37 (2018) 455-467.

22. PLANTUREUX, L. *et al.* - **Effects of platelets on cancer progression.** Thrombosis Research. 164., 1 (2018) S40-S47.

23. ITALIANO, J. *et al.* - **Clinical relevance of microparticles from platelets and megakaryocytes.** Current Opinion in Hematology. 17.,6 (2010) 578-84.

24. PROVOST, P. - **The clinical significance of platelet microparticle-associated microRNAs.** Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 55., 5 (2017) 657-666.

25. CONTURSI, A. *et al.* - **Platelets in cancer development and diagnosis.** Biochemical Society Transactions. 46., 6 (2018) 1517-1527.

26. YAP, M. *et al.* - **Targeting Activated Platelets: A Unique and Potentially Universal Approach for Cancer Imaging.** Theranostics. 7., 10 (2017) 2565-2574.

27. KOLA, S. *et al.* - **Hypothesis: Can drug-loaded platelets be used as delivery vehicles for blood-brain barrier penetration?.** Medical Hypotheses. 125 (2019) 75-78.

28. ORTIZ-OTERO, N. *et al.* - **Platelet-Based Drug Delivery for Cancer Applications. Biomechanics in Oncology.** Advances in Experimental Medicine and Biology. 1092 (2018) 235-251.

29. SANTARPIA, M. *et al.* - **Liquid biopsy for lung cancer early detection.** Journal of Thoracic Disease. 10., 7 (2018) S882-S897.

30. WU, J. *et al.* - **Tumor circulome in the liquid biopsies for cancer diagnosis and prognosis.** Theranostics. 10.,10 (2020) 4544-4556.

31. SOL, N., WURDINGER, T. - **Platelet RNA signatures for the detection of cancer.** Cancer Metastasis Reviews. 36.,2 (2017) 263-272.

32. MAMDANI, H. *et al.* - **Blood-based tumor biomarkers in lung cancer for detection and treatment.** Translational Lung Cancer Research. 6.,6 (2017) 648-660.

33. BEST, M. *et al.* - **RNA-Seq of Tumor-Educated Platelets Enables Blood-Based Pan-Cancer, Multiclass, and Molecular Pathway Cancer Diagnostics.** Cancer Cell. 28.,5 (2015) 666-676.

34. WURDINGER, T. *et al.* - **Platelet RNA as Pan-Tumor Biomarker for Cancer Detection.** Cancer Research. 80.,7 (2020) 1371-1373.

35. VELD, S., WURDINGER, T. - **Tumor-educated platelets.** Blood. 133., 22 (2019) 2359-2364.

36. JOOSSE, S., PANTEL, K. - **Tumor-Educated Platelets as Liquid Biopsy in Cancer Patients.** Cancer Cell. 28., 5 (2015) 552-554.

37. BEST, M. *et al.* - **Tumor-Educated Platelets as a Noninvasive Biomarker Source for Cancer Detection and Progression Monitoring.** Cancer Research. 78.,13 (2018) 3407-3412.

38. LIU, L. *et al.* - **Tumor-educated platelet as liquid biopsy in lung cancer patients.** Critical Reviews in Oncology Hematology. 146 (2020) 102863.

39. POULET, G. *et al.* - **Liquid Biopsy: General Concepts.** Acta Cytologica. 63., 6 (2019) 449-455.

40. PÉREZ-CALLEJO, D. *et al.* - **Liquid biopsy based biomarkers in non-small cell lung cancer for diagnosis and treatment monitoring.** Translational Lung Cancer Research. 5.,5 (2016).

41. TJON-KON-FAT, L. *et al.* - **Platelet RNA in Cancer Diagnostics.** Seminars in Thrombosis and Hemostasis. 44., 2 (2018) 135-141.

42. CALVERLEY, D. *et al.* **- Significant downregulation of platelet gene expression in metastatic lung cancer.** Clinical and Translational Science. 3., 5 (2010) 227-232.

43. NILSSON, R. *et al.* - **Blood platelets contain tumor-derived RNA biomarkers.** Blood. 118., 13 (2011) 3680-3683.

44. BEST, M. *et al.* - **RNA sequencing and swarm intelligence–enhanced classification algorithm development for blood-based disease diagnostics using spliced blood platelet RNA.** Nature Protocols. 14 (2019) 1206-1234.

45. **Tumor-educated Platelets in Venous Thromboembolism.** (2016). [Acedido a 15 de maio de 2020]. Disponível na Internet: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/ results/ NCT02739867

46. **New Strategies to Detect Cancers in Carriers of Mutations in RB1 (NIRBTEST).** (2018). [Acedido a 15 de maio de 2020]. Disponível na Internet: https:// clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04164134

47. **Ovarium Cancer Detection by TEP's and ctDNA.** (2019). [Acedido a 15 de maio de 2020]. Disponível na Internet: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04022863

48. WU, Y. *et al.* - **Clinical-grade cryopreserved doxorubicin-loaded platelets: role of cancer cells and platelet extracellular vesicles activation loop.** Journal of Biomedical Science. 27.,1 (2020) 45.

49. PASTO, A. *et al.* - **Cell membrane protein functionalization of nanoparticles as a new tumor-targeting strategy.** Clinical and Translational Medicine. 8. ,1 (2019) 8.

50. YANG, J. *et al.* - **Platelet-inspired medicine for tumor therapy.** OncoTarget. 8.,70 (2017) 115748-115753.

51. KAILASHIYA, J. *et al.* - **Engineered human platelet-derived microparticles as natural vectors for targeted drug delivery.** OncoTarget. 10 (2019) 5835-5846.

52. HAN, X. *et al.* - **Platelets as platforms for inhibition of tumor recurrence post-physical therapy by delivery of anti-PD-L1 checkpoint antibody.** Journal of Controlled Release. 304 (2019) 233-241.

53. LAMICHHANE, P. *et al.* - **Novel Delivery Systems for Checkpoint Inhibitors.** Medicines (Basel, Switzerland). 6.,3 (2019) 74.

54. CHEN, Q. *et al.* - **Delivery Strategies for Immune Checkpoint Blockade.** Advanced Healthcare Materials. 7., 20 (2018) 1800424.

55. CALDWELL, C. *et al.* - **Identification and Validation of a PD-L1 Binding Peptide for Determination of PDL1 Expression in Tumors.** Scientific Reports. 7, 13682 (2017). https://doi.org/10.1038/s41598-017-10946-2.

56. LI, S. *et al.* - **Cell Membrane-Camouflaged Nanocarriers for Cancer Diagnostic and Therapeutic.** Frontiers in Pharmacology. 11 (2020) 24.

57. WANG, H. *et al.* - **Cell membrane biomimetic nanoparticles for inflammation and cancer targeting in drug delivery.** Biomaterials Science. 8., 2 (2020) 552-568.

58. LU, Y. *et al.* - **Platelet for drug delivery.** Current Opinion in Biotechnology. 58 (2019) 81-91.

59. SARKAR, S. *et al.* - **Drug Delivery Using Platelet Cancer Cell Interaction.** Pharmaceutical Research. 30 (2013) 2785-2794.

60. MARRIOTT, G. - **Engineering platelets for tumour-targeting.** Aging. 8., 8 (2016) 1572-1573.

61. CHEN, Z. *et al.* - **Leveraging Engineering of Cells for Drug Delivery.** Accounts of Chemical Research. 51., 3 (2018) 668-677.

62. WANG, C. *et al.* - **In situ activation of platelets with checkpoint inhibitors for post-surgical cancer immunotherapy.** Nature Biomedical Engineering. 1 (2017) 0011.

63. BANSKOTA, S. *et al.* - **Cell-Based Biohybrid Drug Delivery Systems: The Best of the Synthetic and Natural Worlds.** Macromolecular Bioscience. 17., 1 (2017) doi:10.1002/mabi.201600361.

64. OUYANG, J. *et al.* - **Doxorubicin-loaded platelets as a smart drug delivery system: An improved therapy for lymphoma.** Scientific Reports. 7 (2017) 42632.

65. XU, P. *et al.* - **Doxorubicin-loaded platelets conjugated with anti-CD22 mAbs: a novel targeted delivery system for lymphoma treatment with cardiopulmonary avoidance.** OncoTarget. 8 (2017) 58322-58337.

66. ANSELMO, A., MITRAGOTRI, S. - **Cell-mediated delivery of nanoparticles: taking advantage of circulatory cells to target nanoparticles.** Journal of Controlled Release. 190 (2014) 531-541.

67. ZHANG, L. *et al.* - **Nanoparticle biointerfacing by platelet membrane cloaking.** Nature. 526., 7571 (2015) 118-121.

68. HU, Q. *et al.* - **Anticancer Platelet-Mimicking Nanovehicles.** Advanced Materials (Deerfield Beach, Fla.) 27., 44 (2015) 7043-7050.

69. LI, R. *et al.* - **Cell membrane-based nanoparticles: a new biomimetic platform for tumor diagnosis and treatment.** Acta Pharmaceutica Sinica B. 8.,1 (2018) 14-22.

70. HU, Q. *et al.* - **Engineered Nanoplatelets for Enhanced Treatment of Multiple Myeloma and Thrombus.** Advanced Materials (Deerfield Beach, Fla.). 28,43 (2016) 9573-9580.

71. LI, J. *et al.* - **Targeted drug delivery to circulating tumor cells via platelet membrane-functionalized particles.** Biomaterials. 76 (2016) 52-65.

72. ZHUANG, J. *et al.* - **Targeted gene silencing in vivo by platelet membrane–coated metal-organic framework nanoparticles.** Science Advances. 6, 13 (2020). eaaz6108.

73. AGRAWAL, N. *et al.* - **RNA interference: biology, mechanism, and applications.** Microbiology and Molecular Biology Reviews. 67., 4 (2003) 657-685.

74. DENG, Y. *et al.* - **Therapeutic potentials of gene silencing by RNA interference: Principles, challenges, and new strategies.** Gene. 538., 2 (2014) 217-227.

75. NILSSON, R. *et al.* - **Rearranged EML4-ALK fusion transcripts sequester in circulating blood platelets and enable blood-based crizotinib response monitoring in non-small-cell lung cancer.** OncoTarget. 7 (2016) 1066-1075.

76. LIU, L. *et al.* - **A three-platelet mRNA set: MAX, MTURN and HLA-B as biomarker for lung cancer.** Journal of Cancer Research and Clinical Oncology. 145., 11 (2019) 2713-2723.