



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Francisca Santos Silva

Relatórios de Estágio sob a orientação do Doutor Paulo Jorge da Silva Monteiro e da Engenheira Sónia Quita de Oliveira Pereira e Monografia intitulada “New perspectives for the diagnosis, prognosis, and treatment of pancreatic cancer: the role of long non-coding RNAs” sob orientação da Professora Doutora Alexandrina Maria Ferreira dos Santos Pinto Mendes, referentes à unidade curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023



UNIVERSIDADE D COIMBRA

Francisca Santos Silva

Relatórios de Estágio sob a orientação do Doutor Paulo Jorge da Silva Monteiro e da Engenheira Sónia Quita de Oliveira Pereira e Monografia intitulada “New perspectives for the diagnosis, prognosis, and treatment of pancreatic cancer: the role of long non-coding RNAs” sob orientação da Professora Doutora Alexandrina Maria Ferreira dos Santos Pinto Mendes, referentes à unidade curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro 2023

Eu, Francisca Santos Silva, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2018282594, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada "New perspectives for the diagnosis, prognosis, and treatment of pancreatic cancer: the role of long non-coding RNAs" apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 2 de setembro de 2023.

Francisca Santos Silva

(Francisca Santos Silva)

Agradecimentos

À minha mãe, **Rosa**, por ser a maior responsável de tudo isto. Por olhar por mim e pela minha irmã com tanto rigor e cuidado. Por muitas vezes nem ter tempo de olhar por ela, de tanto que quer olhar por nós. Por acreditar mais em mim do que por vezes eu própria acredito. Por ter atravessado tanto só para conseguir o melhor para nós. Nenhum dos teus esforços passou despercebido e agradeço-te eternamente por cada um.

Aos meus irmãos. À minha irmã, **Juliana**, que é uma gémea tão diferente, mas tão semelhante. A minha permanente companhia de infância. Não há nenhuma memória feliz em que não estejas presente, nem nenhuma memória triste em que não me tenhas confortado. A melhor companhia que podia ter tido ao longo destes cinco anos. Ao meu irmão, **João**, por ter estimulado o meu espírito crítico desde muito nova. Por ter sido um tão grande apoio e por nos ter proporcionado a vida que temos.

Ao meu companheiro das memórias recentes e de muitas futuras, o **Tomás**. Por seres paciente e carinhoso. Por teres a capacidade de me acalmar (até durante épocas de exames) e de me motivar... Por me alertares quando tenho de parar para descansar. Por ampliares a minha felicidade em todos os momentos. Por seres o meu melhor amigo.

Aos meus avós, a **avó São**, a **avó Lála** e o **avô Zé**. Por amarem como ninguém ama e por se preocuparem como ninguém preocupa. Por terem sempre um maminho e palavras de conforto para dar. Por me terem proporcionado uma infância tão feliz e despreocupada.

À **Sylvie** e ao **Victor**, por me tratarem como uma filha. Por me fazerem sentir tão bem-vinda e por procurarem ativamente a minha felicidade. Por me terem recebido e pelos maminhos. Por transmitirem valores tão bonitos.

À Dona **Alice**, por me tratar como uma netinha. Ao Senhor **José Amândio**, que sempre insistiu para não perdermos o comboio.

À família de Penacova: A **madrinha Clara**, o **tio Zé**, a **Minês**, a **Joaninha**, o **Kiko**, a **tia Helena** e o **tio Fernando**. Acima de tudo por uma infância tão feliz e tão divertida, com tanta companhia. Por estimularem a minha irmã e eu a ser criativas e por procurarem sempre instruir-nos. Por todas as ajudas. Por terem contribuído tanto para a pessoa que sou hoje.

Às amizades antiquíssimas. Mais antigas que certos fósseis. À **Caxuxa**, a menina Xu. Não importa o tempo que passe, continuamos sempre na mesma. Por me dar amizade que não vê tempo nem espaço e por se rir de todas as minhas piadas. À **Bárbara**, por me motivar a ser eu própria. Por também se rir de tudo o que digo. Às duas, por todos os dias em que as aulas começavam mais tarde e íamos para Turismo. Às amigas de sempre, mas que estão longe, a **Lara** e a **Claúdia**. Por tornarem o verão tão melhor. Por me fazerem rir tanto e me fazerem sentir tão especial.

Às amizades recentes, que Coimbra tão gentilmente me concedeu. À **Márcia**, a minha companheira. Por tornar estes cinco anos tão melhores. Por me fazer rir à gargalhada. Por todos os conselhos. Desde os jantares, às saídas até às teóricas. Sempre juntas.

À **Professora Doutora Alexandrina Mendes**. Pela compreensão, pela cordialidade e pela simpatia. Por se demonstrar sempre disponível e pronta a ajudar. Por me orientar e aconselhar de forma tão atenciosa.

Ao **Doutor Paulo Monteiro** e a toda a **equipa da Farmácia São José**. Por me terem proporcionado uma experiência tão boa que me ensinou tanto e me fez tão feliz. Por se preocuparem genuinamente comigo e com o bem-estar de todos os estagiários.

À **Engenheira Sónia Oliveira** e a toda a **equipa do fabrico da Generis**: os supervisores, operadores e membros da equipa de higienização. Por terem contribuído tanto para o meu crescimento pessoal e por todos os valores transmitidos.

À **Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra**.

A cinco anos cheios de lágrimas e de sorrisos. A cinco anos de crescimento. A cinco anos que me ensinaram tanto de mim. A cinco anos que deixam saudades eternas.

A **Coimbra**.

Obrigada.

Índice

CAPÍTULO I – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA.....	7
<i>Lista de Abreviaturas.....</i>	8
INTRODUÇÃO.....	9
1. FARMÁCIA SÃO JOSÉ.....	9
1.1. Localização.....	9
1.2. Organização do espaço.....	9
1.3. Horário de funcionamento.....	10
2. ANÁLISE SWOT.....	10
2.1. Pontos fortes (<i>Strengths</i>).....	10
2.1.1. Equipa técnica.....	10
2.1.2. Diversidade de utentes.....	11
2.1.3. Versatilidade de serviços prestados.....	11
2.1.4. Organização do estágio.....	12
2.1.5. Dermocosmética e suplementos alimentares.....	13
2.2. Pontos fracos (<i>Weaknesses</i>).....	14
2.2.1. Número de estagiários.....	14
2.2.2. Desconhecimento de nomes comerciais.....	14
2.2.3. Insegurança no aconselhamento.....	14
2.3. Oportunidades (<i>Opportunities</i>).....	15
2.3.1. Gestão de resíduos.....	15
2.3.2. Formações recorrentes.....	15
2.3.3. Plano de estudos do MICF.....	16
2.4. Ameaças (<i>Threats</i>).....	16
2.4.1. Competitividade em diversos segmentos de mercado.....	16
2.4.2. A atual realidade socioeconómica do país.....	17
2.4.3. Medicamentos esgotados.....	17
3. CASOS PRÁTICOS.....	17
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	22
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23
6. ANEXO.....	26
CAPÍTULO II – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA.....	32
<i>Lista de Abreviaturas.....</i>	33
INTRODUÇÃO.....	34
1. A UNIDADE FABRIL.....	34
1.1. Centro de Pesagens.....	35
1.2. Salas de Granulação.....	35
1.3. Compressão, Revestimento e Enchimento de Cápsulas.....	36
2. ANÁLISE SWOT.....	36
2.1. Pontos fortes (<i>Strengths</i>).....	36
2.1.1. Plano de estágio.....	36
2.1.2. Equipa.....	37

2.1.3.	Equipamentos.....	37
2.2.	Pontos fracos (Weaknesses)	38
2.2.1.	Estagiária única de MICF da FFUC.....	38
2.2.2.	Duração do estágio.....	38
2.2.3.	Estágio observacional.....	38
2.3.	Oportunidades (Opportunities)	38
2.3.1.	Crescimento do mercado de Genéricos	38
2.3.2.	Multidisciplinariedade.....	39
2.3.3.	A perspectiva do farmacêutico.....	39
2.4.	Ameaças (Threats)	39
2.4.1.	Ambiente altamente regulamentado.....	39
2.4.2.	Escassez de recursos humanos	40
2.4.3.	Segurança individual	40
3.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
4.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
5.	ANEXO.....	43
	CAPÍTULO III – MONOGRAFIA INTITULADA “NEW PERSPECTIVES FOR THE DIAGNOSIS, PROGNOSIS AND TREATMENT OF PANCREATIC CANCER: THE ROLE OF LONG NON-CODING RNAS”	46
	Abbreviations	47
	Resumo.....	49
	Abstract.....	50
	INTRODUCTION.....	51
1.	Cancer and non-coding RNAs.....	51
1.1.	Cancer.....	51
1.2.	Non-coding RNAs.....	52
1.3.	Cancer and long non-coding RNAs	56
2.	Pancreatic cancer	58
2.1.	Pancreatic precancer and cancer	58
2.2.	Pancreatic cancer driver mutations.....	60
2.2.1.	LncRNAs and KRAS signaling	60
2.2.2.	LncRNAs and TGF-β/SMAD4 signaling.....	61
2.2.3.	LncRNAs and TP53	62
2.2.4.	LncRNAs and CDKN2A	62
3.	LncRNAs and pancreatic cancer	63
3.1.	Diagnosis.....	63
3.2.	Prognosis	66
3.3.	Treatment	68
4.	CONCLUDING REMARKS	72
5.	REFERENCES.....	74

CAPÍTULO I

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

FARMÁCIA SÃO JOSÉ, COIMBRA

Orientado pelo Doutor Paulo Monteiro

Lista de Abreviaturas

AMI – Associação Médica Internacional

EC – Estágio Curricular

ED – Encomenda Diária

FSJ – Farmácia São José

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

ITU - Infecção do Trato Urinário

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamento não sujeito a Receita Médica

MNSRM-EF - Medicamento não sujeito a Receita Médica de Venda Exclusiva em Farmácia

MSRM – Medicamento Sujeito a Receita Médica

PAC – Proantocianidina

PIM – Preparação Individualizada da Medicação

PVP – Preço de Venda ao Público

PVF – Preço de Venda à Farmácia

SWOT - Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats

TSH – Hormona estimulante da tiroide

INTRODUÇÃO

Findos nove semestres de aulas do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), no segundo semestre do quinto ano, chega o momento de realizar o Estágio Curricular (EC). O Estágio é efetuado em Farmácia Comunitária e tem uma duração mínima de seis meses.

O EC é um passo crucial à transição do aluno para o mercado do trabalho, pois permite-lhe enquadrar os conhecimentos adquiridos ao longo do seu percurso académico à vida real. É francamente natural que o aluno se sinta apreensivo durante esta transição e, por isso, é imperativo que o primeiro contacto seja junto de profissionais experientes, que o possam guiar, aconselhar e tranquilizar.

A abrangência geográfica das farmácias comunitárias e a presença de profissionais de saúde qualificados e capazes faz com que, frequentemente, o farmacêutico seja o primeiro contacto que o doente tem com os serviços de saúde. É importante que mantenha o seu conhecimento constantemente atualizado para desempenhar o seu papel da forma mais apropriada possível.

O meu EC foi realizado na Farmácia São José (FSJ), relativamente ao qual farei uma análise SWOT. Esta consiste na junção de uma análise interna, que resulta na enumeração dos Pontos fortes (*Strengths*) e Pontos fracos (*Weaknesses*), aliada a uma análise externa, que culmina na exposição de Oportunidades (*Opportunities*) e Ameaças (*Threats*).

I. FARMÁCIA SÃO JOSÉ

I.1. Localização

A FSJ localiza-se no Distrito de Coimbra, na Freguesia de Santo António dos Olivais, na Avenida Calouste Gulbenkian, dentro do centro comercial Primavera. Localizada numa zona particularmente movimentada, a FSJ é alvo de uma grande afluência, quer por utentes fiéis ao estabelecimento, quer por pessoas que estejam apenas de passagem.

I.2. Organização do espaço

A infraestrutura da FSJ está de acordo com as áreas mínimas e divisões reguladas pela Deliberação n.º 1502/2014, de 3 de julho (1). É composta por dois pisos, sendo que no primeiro piso está localizada a zona de atendimento ao público, cuja entrada se encontra em frente de uma das entradas do centro comercial. Ao entrar na FSJ, o cliente encontra à sua frente oito balcões individuais e à sua esquerda dois balcões unidos. Ainda no primeiro piso, há dois gabinetes de utente, onde ocorre a administração de injetáveis, medições da tensão

arterial e parâmetros bioquímicos (como a glicémia, o colesterol total e os triglicéridos). Nestes também se realizam consultas de podologia e nutrição e testes rápidos à Covid-19.

No segundo piso é onde se realiza grande parte das atividades de gestão farmacêutica, como o processo de realização de encomendas, a respetiva receção, o armazenamento dos medicamentos, entre outros. O armazenamento é efetuado essencialmente no *robot* BD Rowaä Vmax, sendo que há também uma sala de armazenamento com prateleiras móveis. Há também gavetões deslizantes onde são armazenadas embalagens de grande dimensão, suplementos alimentares e medicamentos veterinários. Há dois frigoríficos que servem ao armazenamento de produtos cujo armazenamento requer temperatura inferior à temperatura ambiente. No segundo piso localiza-se também o laboratório, onde são preparados medicamentos manipulados, o escritório e uma casa de banho.

1.3. Horário de funcionamento

A FSJ está aberta ao público de segunda-feira a sábado, sendo que de segunda a sexta-feira está em funcionamento das 8h30 às 21h, e aos sábados das 9h às 20h.

De 20 em 20 dias, a FSJ realiza serviço permanente, que se traduz num funcionamento ininterrupto durante 24 horas, de forma a satisfazer as necessidades urgentes do público (2).

2. ANÁLISE SWOT

2.1. Pontos fortes (*Strengths*)

2.1.1. Equipa técnica

A equipa técnica da FSJ é constituída por 20 profissionais. Um primeiro contacto com o mundo do trabalho numa equipa tão grande parece, à partida, intimidante, mas o número de profissionais é compensado pela forma fraterna com que convidam os estagiários a integrar a equipa. A equipa da FSJ está dividida entre profissionais que executam atividades de *back-office* e profissionais que se estabelecem no atendimento ao público. No entanto, quando a afluência de utentes à farmácia o exige, os profissionais que se situam no *back-office* deslocam-se até um balcão vago e efetuam atendimentos de forma completamente independente.

A equipa técnica torna-se um ponto forte no meu estágio na FSJ, no sentido em que todos os profissionais possuem uma capacidade transcendente para explicar de forma clara todos os procedimentos que executam. A cada profissional da FSJ é incumbida uma função específica, e foi de grande interesse aprender diferentes vertentes do conhecimento pelo profissional que melhor estava qualificado para as transmitir. Apesar de conviver com uma

equipa técnica tão heterogénea, os princípios transmitidos por cada profissional foram análogos: profissionalismo, rigor e companheirismo.

2.1.2. Diversidade de utentes

A FSJ localiza-se em Celas, numa zona residencial muito movimentada. Há, por esse motivo, muitos utentes que por residirem nas redondezas, são fiéis ao estabelecimento. Isto é vantajoso porque para além de haver acesso ao historial medicamentoso do utente, os profissionais já estão familiarizados com o perfil clínico do mesmo. Com estes utentes é possível fazer um verdadeiro acompanhamento farmacoterapêutico, podendo a equipa técnica vigiar a evolução das doenças e a resposta à terapêutica farmacológica. Outros clientes, comparecem na FSJ apenas para aviar uma receita ou procurar tratar uma situação aguda, de menor gravidade. Para além destes casos, a FSJ é reconhecida por ser um local apto à preparação de uma grande variedade de manipulados, e pela proximidade do Centro Hospitalar Universitário de Coimbra, do Hospital Pediátrico e do Hospital da Luz, é um local de referência para a manipulação de medicamentos. O estágio na FSJ fez com que eu contactasse com uma grande diversidade de casos clínicos, preparando-me para os muitos cenários que se podem desenvolver numa farmácia comunitária.

2.1.3. Versatilidade de serviços prestados

A FSJ permitiu-me observar a prestação de muitos serviços farmacêuticos e outros serviços de promoção de saúde e bem-estar passíveis de ser realizados em farmácia comunitária, enumerados na Portaria n.º 97/2018 de 9 de abril (3).

Tive o privilégio de assistir e auxiliar a preparação de vários medicamentos manipulados, dos quais destaco quatro: papéis medicamentosos de benzoato de sódio, uma pomada de permetrina a 5%, cápsulas de ivermectina a 10mg e uma solução de lidocaína a 2% com nistatina e bicarbonato de sódio a 1,4%. Foi possível registar as fichas de preparação de cada medicamento manipulado, presentes em Anexo nas Figuras 1, 2, 3 e 4.

Surgiu também a oportunidade de assistir, por diversas vezes, à Preparação Individualizada da Medicação (PIM) de diversos utentes, que é feita na FSJ em conformidade com as orientações da Norma Geral da Ordem dos Farmacêuticos para a PIM (4). Para além de minimizar o risco de permutação de medicação, este serviço permite ao farmacêutico quantificar a adesão à terapêutica, aquando da entrega dos contentores da PIM vazios. O registo fotográfico de uma PIM encontra-se na Figura 5, em Anexo.

A FSJ permite ao estagiário um contacto frequente com diferentes serviços farmacêuticos - um ponto forte, visto que familiariza o estagiário e prepara-o para as atividades que um dia poderá vir a desempenhar.

2.1.4. Organização do estágio

O número de estagiários na FSJ durante o meu EC impossibilitou a divisão habitual do estágio que, por norma, se inicia com atividades de *back-office* e só depois transita para o atendimento ao público. Surpreendentemente, considero a divisão efetuada um ponto forte. Inicialmente, os estagiários foram divididos em 2 grupos, sendo que um grupo se encontrava no atendimento ao público de manhã enquanto o outro exercia atividades de *back-office*. Depois da hora de almoço, invertiam-se os papéis.

As atividades de *back-office* permitem ao estagiário contactar com os procedimentos que permitem a manutenção da rentabilidade de uma farmácia. A FSJ recebe e efetua encomendas para 4 distribuidoras: Alliance HealthCare, S.A., Empifarma – Produtos Farmacêuticos S.A., Plural – Cooperativa Farmacêutica, Crl e Botelho e Rodrigues, Lda. No primeiro dia de estágio, fui prontamente instruída a receber encomendas provenientes destas quatro distribuidoras. No *back-office*, para a gestão farmacêutica, é usado o *software* Sifarma2000®. Ao longo do primeiro mês aprendi a fazer devoluções de produtos e a conferir notas de encomendas em “encomendas diretas”, ou seja, encomendas feitas diretamente ao laboratório. Também realizei o controlo de prazos de validade e de *stocks*, comparando os registos do *software* com os valores reais. Um exemplo da lista de controlo de prazos de validade encontra-se em Anexo na Figura 6.

Durante os últimos meses de estágio assisti e auxiliei na execução das encomendas diárias (ED). As ED são encomendas de produtos que atingem o *stock* mínimo definido pela farmácia durante a manhã, no caso da ED efetuada até às 12h30, ou durante a tarde, no caso da ED efetuada até às 19h30. Assisti também ao processo de verificação do receituário, que ocorre mensalmente para receitas manuais. Este procedimento consiste em aferir se todo o receituário está conforme, de acordo com os requisitos presentes no artigo 12º da Portaria n.º 224/2015, de 27 de julho (5). Somente a verificação cumulativa de todos estes requisitos permite a comparticipação pela entidade comparticipadora concernente. Este processo é também importante para aferir se a dispensa foi efetuada corretamente, garantindo assim a segurança do doente. Para o pagamento da comparticipação pelo Estado aos beneficiários do SNS, por exemplo, têm de ser cumpridas todas as regras presentes na Portaria n.º 223/2015, de 27 de julho, sob pena de devolução (6).

Também assisti ao processo de faturação a entidades, que consiste na reunião mensal dos documentos de faturação, ou receitas (no caso de serem materializadas), e na sua organização por subsistema de saúde responsável pela comparticipação. São depois organizadas por lotes, que reúnem 30 receitas, é emitido o verbete, a fatura e o resumo de cada lote.

Durante o atendimento ao público, o estagiário entra em contacto direto com o doente e assiste-o com os seus conhecimentos. Nos atendimentos é usado essencialmente o novo módulo de atendimento do Sifarma. Foi durante a terceira semana de estágio que passei a efetuar atendimentos sozinha, recorrendo ao apoio de um profissional sempre que necessário.

Esta divisão do estágio permitiu que os conhecimentos de cada uma das vertentes, *front-office* e *back-office*, fossem sendo adquiridos em simultâneo e isto incitou uma grande sensação de independência ao longo do tempo.

2.1.5. Dermocosmética e suplementos alimentares

A FSJ apresenta um abrangente portefólio de marcas de produtos dermocosméticos, e dentro de cada uma, diversas gamas que permitem dar resposta a diferentes afeções de pele e necessidades de cada utente. À partida, uma tão grande diversidade de produtos pode parecer intimidante para um estagiário. Contudo, os conhecimentos adquiridos nas unidades curriculares do MICEF, associados às frequentes formações efetuadas pelos laboratórios de cosmética na FSJ, proporcionaram conforto no aconselhamento. Estas formações tinham como âmbito dar a conhecer à equipa os produtos das marcas, os seus compostos, benefícios e indicações. Tive a oportunidade de assistir a formações de diversos laboratórios, como por exemplo Pierre Fabre®, Cantabria labs® e também a divisão Cosmética Ativa da L’Oreal®. Para além disso, a FSJ foi visitada por conselheiras de diferentes marcas de cosmética que, de forma breve, faziam um resumo das gamas da marca que representavam. Para além da conselheira dos laboratórios Pierre Fabre®, compareceram também na FSJ as conselheiras das marcas Filorga®, Darphin®, Lierac®, Caudalie®, SVR® e Skinceuticals®.

À semelhança do sucedido com produtos de Dermocosmética, a FSJ foi visitada diversas vezes por representantes de vários laboratórios de suplementos alimentares. Para além de investir bastante na formação da sua equipa nesta temática, a FSJ reúne uma enorme variedade destes produtos.

Considero que o EC na FSJ refinou a minha capacidade de reconhecer o melhor suplemento alimentar ou dermocosmético para os sinais e sintomas de cada utente. Este é, na minha opinião, um ponto forte, visto que me tornou capaz de reconhecer as indicações e as especificidades de cada produto, uma característica importante para futuro farmacêutico.

2.2. Pontos fracos (Weaknesses)

2.2.1. Número de estagiários

O número de estagiários revelou-se um ponto fraco, visto que limitou a atenção e auxílio dados pelos profissionais da farmácia a cada estagiário. Durante os primeiros três meses em que estagiei na FSJ, havia quatro colegas em EC. No último mês, cresceram-se quatro colegas, o que resultou num total de nove pessoas a realizar o seu EC na FSJ. Acresceram-se ainda os farmacêuticos, os técnicos e os estagiários profissionais. Tudo isto exigiu uma grande coordenação por parte de toda a equipa, de forma a não tornar o ambiente confuso. Mesmo depois de todos os esforços, foram diversas as vezes em que tive a oportunidade de assistir a procedimentos que os meus colegas estagiários acabaram por não assistir, e vice-versa. Isto acaba por tornar a experiência entre estagiários muito heterogénea.

2.2.2. Desconhecimento de nomes comerciais

O início do EC em farmácia comunitária foi marcado por momentos de grande insegurança, acima de tudo no que toca à grande variedade de nomes comerciais de medicamentos, dispositivos médicos e suplementos alimentares. Os utentes, já habituados ao extenso conhecimento do resto da equipa, acabam por abordar-nos, estagiários, com nomes que ainda desconhecemos. Mesmo sabendo verbalizar o nome comercial, ao introduzir no Sifarma, um simples erro ortográfico faz com que não surjam resultados para a pesquisa. Isto gera um grande constrangimento, no sentido em que o utente, já reticente, acaba por suspeitar ainda mais das capacidades dos estagiários.

2.2.3. Insegurança no aconselhamento

A introdução na atividade farmacêutica será sempre algo intimidante. Afinal, um farmacêutico é um agente de saúde pública que tem à sua responsabilidade a segurança dos seus utentes. Considero natural a hesitação que experienciei ao longo do meu estágio na FSJ. A insegurança, no entanto, acompanhou-me em todos os atendimentos que requeriam aconselhamentos por recear não estar a prestar os melhores conselhos, ou a dispensar o Medicamento não sujeito a Receita Médica (MNSRM) ou Medicamento não sujeito a Receita Médica de Venda Exclusiva em Farmácia (MNSRM-EF) mais adequado ao utente em causa. A sensação de insegurança acabava por ser transmitida ao utente, que sentia necessidade de ver a minha opinião validada por um profissional mais experiente.

A maior perplexidade manifestava-se sempre que era necessário aconselhar produtos de puericultura e veterinária. Apesar de completo, o plano de estudos do MIFC é, na minha ótica, insuficiente no que toca à exposição destes temas. Ao longo do EC fui-me familiarizando com

alguns produtos, principalmente depois de várias formações alusivas a estes tópicos. A minha participação numa formação dinamizada pelo Grupo Cooprofar intitulada “Parasitas Externos dos Animais de Companhia” fez com que ficasse mais confortável no aconselhamento de produtos para o tratamento e prevenção de parasitoses em cães e gatos. Todavia, os meus aconselhamentos neste âmbito foram sempre bastante insatisfatórios, pois apesar de poder contar com as explicações dos meus colegas, acabava por me sentir derrotada.

2.3. Oportunidades (*Opportunities*)

2.3.1. Gestão de resíduos

A FSJ aderiu à Campanha de Reciclagem de Radiografias da Assistência Médica Internacional (AMI), que implementa a recolha de material radiológico com mais de 5 anos ou sem valor diagnóstico. A reciclagem das radiografias permite uma menor contaminação ambiental e a venda da prata nelas incorporada é fonte de receitas que financiam os diversos projetos sociais da AMI. Durante o meu estágio, foram inúmeras as vezes em que efetuei a reciclagem deste material. Quando na FSJ estivessem um ou mais sacos cheios esta requeria, de forma gratuita, a recolha dos mesmos. A FSJ representa também um ponto de recolha do ValorMed, onde podem ser depositados medicamentos que o utente já não usa ou cujo prazo de validade foi ultrapassado. Podem também ser depositadas as cartonagens, folhetos informativos, assessorios de administração como colheres, cânulas, entre outros. As agulhas, por outro lado, devem ser depositadas somente no Agulhão, também presente na FSJ.

Campanhas como estas, para além de diminuem o impacto ambiental do circuito do medicamento, encaminham os resíduos para locais onde serão geridos da forma mais apropriada possível. É bastante útil que o estagiário contacte com este tipo de iniciativas durante o EC, porque para além de ficar consciente da sua existência, aprende também acerca da sua importância.

2.3.2. Formações recorrentes

Na FSJ, durante o período do meu EC, foram inúmeras as pequenas formações que decorreram. Estas formações eram palestras pelos delegados de informação médica de vários laboratórios e abrangeram inúmeros tópicos, desde suplementos alimentares, até dermocosmética e MNSRM. Geralmente tinham lugar no escritório da FSJ e a equipa era dividida para que todos tivessem oportunidade de assistir. Todavia, houve várias ocasiões em que a equipa foi convidada a deslocar-se a palestras que decorreram fora da farmácia.

Todas estas formações contribuem para a formação contínua dos profissionais da FSJ e, por consequência, para a instrução dos estagiários que por lá passam.

2.3.3. Plano de estudos do MICF

Durante o EC confirmei aquilo que já presumia, a adequação do plano de estudos do MICF. Em 2019, em Portugal, mais de 41% da população com mais de 16 anos sofria de pelo menos uma doença crónica (7). Em 2020, a maior causa de morte, responsável por 28% dos óbitos, foram as doenças do sistema circulatório. Destas, salientam-se as doenças cerebrovasculares e a doença isquémica do coração (8). Para o desenvolvimento destas, os maiores fatores de risco são, entre outros, diabetes mellitus, hipertensão arterial e deslipidémia (9,10), cuja prevalência na população portuguesa é elevada (10). Relativamente a estas desequilíbrios, que são diariamente observadas em farmácia comunitária pela sua prevalência, considero que o plano de estudos foi irreprovável, visto que me senti completamente confortável com estes tópicos. Neste sentido destaco as unidades curriculares Farmacologia I, Farmacologia II e Farmacoterapia. Destaco também Fitoterapia e Indicação Terapêutica, que forneceram bases indispensáveis para aconselhamentos em situações agudas. Dermofarmácia e Cosmética foi uma unidade curricular cujos conhecimentos transmitidos foram de grande utilidade, tanto para perceber a complexidade das gamas, como para saber aconselhar a melhor opção para cada doente.

2.4. Ameaças (*Threats*)

2.4.1. Competitividade em diversos segmentos de mercado

Em 2005, com o Decreto-Lei n. °134/2005, foi estabelecido que os MNSRM não participados pelo Estado português poderiam ser comercializados “fora das farmácias em locais que cumpram os requisitos legais e regulamentares”. Este diploma induziu uma liberalização do mercado, estabelecendo também um regime de preços livre para estes medicamentos, sendo a própria farmácia que define a sua margem de lucro (11). Esta alteração à legislação constituiu uma ameaça à sustentabilidade das farmácias, obrigadas a competir com os preços praticados por outros estabelecimentos de venda de MNSRM. O mesmo acontece com a dermocosmética e suplementos alimentares, vendidos noutros estabelecimentos, que obrigam a um mercado tendencialmente mais competitivo. Confrontado com a escolha, geralmente o utente seleciona o estabelecimento que disponibiliza o mesmo produto mais barato. A farmácia acaba por perder muitos aconselhamentos e vendas à custa desta competição que é feita com grandes superfícies comerciais e parafarmácias.

2.4.2. A atual realidade socioeconómica do país

A situação socioeconómica atual obriga a uma restrição de consumos cada vez maior. Para além disso, aumentaram os Preços de Venda à Farmácia (PFV) de muitos produtos, sendo que, para manter a sua margem de lucro, a farmácia é obrigada a praticar preços mais elevados. Adicionalmente, houve muitas alterações aos Preços de Venda ao Público (PVP) de muitos Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM), resultantes de uma revisão excecional aos preços dos medicamentos. Esta revisão teve em vista o aumento do preço dos medicamentos mais baratos de forma a reduzir situações de rotura de stock (12). As alterações obrigavam a uma monitorização cuidadosa no momento da sua venda, de forma a corrigir o PVP.

Com cada vez menos poder económico, o utente acaba por, tendencialmente, se afastar da compra de outros produtos para além dos MSRM que lhe são essenciais. Nesta categoria caem outros produtos que a farmácia tem para oferecer e talvez aqueles que lhe proporcionam as margens mais vantajosas. Tal situação acaba por ser desfavorável aos estagiários que assistem a menos aconselhamentos para além da dispensa de MSRM prescritos pelos médicos aos doentes.

2.4.3. Medicamentos esgotados

Sem dúvida que uma das problemáticas constantes do meu EC foram os medicamentos esgotados, impossíveis de encomendar. Para aliviar esta situação, no novo módulo do Sifarma, eram feitas reservas destes medicamentos para a pessoa que os solicitava.

Durante os primeiros meses, havia vários medicamentos notórios pela rotura de stock, como Neurobion® em comprimidos, Ozempic®, Inderal®, Ovestin®, Trulicity® e Rivotril®.

Durante o mês de fevereiro, houve um distribuidor grossista que forneceu à FSJ uma quantidade de Ovestin® suficiente para cobrir as reservas em atraso. Nesse dia fui responsável por ligar aos utentes para informar acerca da disponibilidade das suas reservas, tarefa que demorou mais de 5 horas a completar. É frustrante, durante os atendimentos, lidar com utentes dececionados por não poderem adquirir a sua medicação. É sobretudo frustrante quando os utentes não percebem a inculpabilidade da farmácia, acabando por acusar a mesma.

3. CASOS PRÁTICOS

Caso Prático I:

Jovem adulta que se dirige à farmácia com um quadro de disúria, poliúria e desconforto na região uro-vaginal. Diz que desenvolve com frequência Infecções do Trato Urinário (ITUs) e leu que produtos com Arando Vermelho (*Vaccinium macrocarpon*) têm potencial terapêutico

em situações destas, e desta forma procura um suplemento alimentar que o contivesse na sua composição.

O tratamento de uma ITU inferior não complicada, prende-se muitas vezes pelo alívio sintomático, não recorrendo ao uso de antibióticos. Tal acontece devido à emergência, cada vez mais veloz, de estirpes bacterianas resistentes aos antibióticos (13). É, portanto, importante que surjam alternativas terapêuticas para a prevenção de ITU que limitem o surgimento de resistências bacterianas. Consequentemente, apresentei-lhe um suplemento alimentar com Arando Vermelho, Equinácia (*Echinacea purpurea*) e vitamina C - o Roter Cranberry®. O Arando Vermelho é constituído por proantocianidinas (PACs), que são polímeros ou oligómeros de flavanos. As ligações interflavânicas presentes nas PACs deste fruto, são principalmente do tipo A (14) e esta é a estrutura detentora do potencial terapêutico em ITUs (13,14,15). Estes compostos diminuem a ligação das adesinas fimbriais de bactérias uropatogénicas às células epiteliais do trato urinário (13,15). Alguns estudos apontam também para uma inibição da formação de biofilmes das bactérias uropatogénicas a nível do trato urinário, um reconhecido fator de virulência (13). Por sua vez, a Equinácia e a vitamina C têm um papel de fortalecimento do sistema imunitário (16, 17), tornando o organismo mais competente para combater a infeção. Recomendai-lhe a toma de uma cápsula por dia até ao final da embalagem de trinta cápsulas.

Ao longo da interação com a utente, apercebi-me de que se queixava também de infeções vulvovaginais frequentes, cujos sintomas eram característicos de candidíase vulvovaginal: prurido intenso, inchaço da região vulvar e um corrimento espesso e esbranquiçado. Perguntei-lhe então se, para o tratamento das ITUs, fazia recorrentemente tratamento com antibióticos, ao qual me respondeu que sim. Expliquei-lhe que estes tratamentos podem alterar o equilíbrio do microbioma, incluindo a flora vaginal (18). Este desequilíbrio pode induzir a proliferação fúngica da *Candida spp.* (19,20). Desta forma, para além do Suplemento Alimentar com Arando Vermelho, importante à prevenção de futuras infeções urinárias, propus-lhe uma suplementação com probióticos, que se demonstram valiosos no restabelecimento da flora vaginal (18,20). O Suplemento Alimentar eleito foi Baciginal® Oral 5, que contém 4 espécies diferentes de probióticos do género *Lactobacillus spp.* e um probiótico do género *Bifidobacterium spp.* (21). Informei também a utente que poderia tomar uma cápsula diariamente, à refeição, durante trinta dias.

Aconselhei a utente a beber quantidades abundantes de água por dia, fazer uma higienização adequada da região vulvovaginal, com água tépida e produtos lavantes adequados à região, sendo que no final da lavagem toda a região deveria ser muito bem seca. A duração

da toma dos Suplementos Alimentares iria ser de um mês e indiquei-lhe que se os sintomas persistissem deveria ser acompanhada por um médico para descobrir a etiologia do problema e, desta forma, seguir um tratamento direcionado.

Caso Prático II:

Senhora que requisita um xarope para a tosse do seu filho de 30 anos, que é bastante seca e irritativa, sem sinais de expetoração. Inicialmente questionei a senhora se o seu filho apresentava algum sintoma adicional, como febre, dispneia ou pieira, ao qual me respondeu que não. Disse-me que a tosse durava há 2 dias e que impedia o sono do seu filho.

Antes de qualquer aconselhamento farmacológico, expliquei que a tosse é um mecanismo de defesa do organismo e um sintoma e que por esse motivo não deve ser frenada. O mais importante é detetar a sua causa e eliminá-la. Para aliviar este sintoma, aconselhei a toma de GrinTuss® Adult, um dispositivo médico de classe IIa. A ação deste produto é apoiada pela presença de mel e de um complexo molecular de resinas, polissacáridos e flavonoides de Tanchagem, Grindélia e Helicriso (22). O mel é um demulcente que reduz a fricção ao nível da faringe (23), que pode estimular o reflexo da tosse e os compostos naturais exercem um efeito anti-inflamatório (22). O xarope forma uma barreira física no trato respiratório superior, impedindo que entre em contacto com substâncias irritantes presentes no ar inspirado (22). Aconselhei a toma de 10 mililitros três a quatro vezes por dia (24), conforme a necessidade, mas ressalvei que a última toma deveria ser feita antes de se deitar, para atenuar a tosse que o impede de dormir.

Acrescentei que, podendo ser uma tosse alérgica, a sua habitação deveria ser limpa do agente que a pode causar, como ácaros ou determinados tipos de alergénios. Finalmente aconselhei também a elevação da almofada da cama, que pode diminuir a acumulação de substâncias irritantes ao nível da faringe.

Caso Prático III:

Jovem adulta que recorre à farmácia para procurar uma solução para as crises de prurido que sofre por vezes ao deitar. Explica-me que sofre de dermatite atópica e que está numa fase de exacerbação, principalmente na zona dos tornozelos. Acrescentou que já estava a realizar a sua rotina de cuidados para as agudizações, que inclui a lavagem com o óleo de limpeza da Uriage® da gama Xémose e a hidratação com o bálsamo-óleo da mesma gama. Por este motivo, só procurava algo prático que acalmasse o prurido que sente em zonas específicas da sua pele. Aconselhei-lhe a pulverização do spray Cicavit + SOS Grattage da SVR®, que alega

um efeito antipruriginoso e de prevenção de marcas. Expliquei que deveria pulverizar o spray a pelo menos 15 centímetros da sua pele e que não haveria necessidade de o espalhar.

Durante o atendimento mencionou que sofria tireoidite de Hashimoto, e perguntou-me se havia algum suplemento alimentar que pudesse tomar no âmbito desta patologia. Por consequência, questionei a doente se era medicada com levotiroxina sódica, ao qual me respondeu que sim. Neste seguimento, perguntei-lhe quando tinha sido a última vez que tinha analisado os valores da sua Hormona Estimulante da Tireoide (TSH). Respondeu-me que tinha feito esta medição há menos de um mês e os valores estavam no limite superior da normalidade, sendo que o seu endocrinologista não fez alterações à terapêutica. Estando a terapia farmacológica controlada, mencionei o suplemento alimentar BioActivo® Selénio + Zinco. Este suplemento contém zinco e vitaminas C, E e B6. Contém também Selénio numa levedura patenteada com elevada biodisponibilidade, a SelenoPrecise® (25). Este mineral é incorporado nas selenoproteínas que são antioxidantes a nível do tecido tiroideu e, ao integrar a composição das iodotironinas desiodases, é importante na conversão da enzima tiroideia T4 à sua forma ativa, a T3 (26,27). Este suplemento pode afigurar-se uma mais-valia para quem tem patologia da tireoide, principalmente se o seu consumo de selénio foi insuficiente (26,27). Aconselhei a toma de um comprimido por dia, durante a refeição (25), durante dois meses. Acrescentei que se pretendesse prolongar a terapêutica, deveria confirmar com o seu endocrinologista se o poderia fazer com segurança.

Caso Prático IV:

Jovem adulta que recorre à FSJ à procura de algo que trate a sua congestão nasal. Explica que sente uma maior congestão na narina direita, que propaga no sentido do ouvido direito. Estes sintomas teriam surgido há cinco dias, no seguimento de uma constipação leve. Ao questioná-la acerca da presença de outros sintomas, como febre, mialgias ou dor de cabeça, indicou que não. Menciona apenas um ligeiro cansaço, que não considera preocupante. Também mencionou que não terá implementado qualquer tipo de terapêutica farmacológica, recorrendo à farmácia para assim a iniciar.

Para solucionar os seus sintomas, propus-lhe a limpeza nasal com água do mar hipertónica, neste caso o dispositivo médico Nasomar®, com uma a duas pulverizações por dia em cada narina. A irrigação nasal aumenta a eliminação dos fluidos nasais, substâncias inflamatórias e até possíveis alergénios (28). Os estudos sugerem que uma maior concentração de cloreto de sódio diminui mais rapidamente os sintomas de congestão nasal, por diminuir o edema local e aumentar a *clearance* mucociliar (28). Dispensei também Vibrocil® Actilong, um

MNSRM com uma concentração de 1mg/mL de Cloridrato de Xilometazolina, um descongestionante nasal (29). Recomendei uma pulverização em cada narina, três vezes por dia. Aconselhei que esta terapêutica fosse mantida durante um máximo de cinco dias, visto que o uso de descongestionantes tópicos por um período prolongado pode causar rinite medicamentosa (30). No caso de não sentir melhorias, sugeri que a utente deveria dirigir-se ao médico.

Cerca de uma semana depois, a utente visitou novamente a FSJ, desta vez com uma receita médica. Referiu que, apesar das medidas implementadas, os sintomas tornaram-se tendencialmente piores, o que levou a utente a dirigir-se às urgências. Depois de ser analisada por um médico, foi-lhe diagnosticada uma otite cerosa, para a qual lhe foi prescrita uma associação de Amoxicilina com Ácido Clavulânico, 875 mg + 125 mg, respetivamente. Neste sentido indiquei-lhe que deveria ingerir muita água durante a toma do antibiótico, e realcei a importância de seguir rigorosamente a terapêutica definida pelo médico. A posologia implementada foi um comprimido de doze em doze horas, durante oito dias. Ressalvei que o tratamento deveria ser seguido até ao fim, mesmo que sentisse melhorias significativas.

Caso Prático V:

Utente do sexo masculino, com cerca de 60 anos, que procura algo que alivie o desconforto que sente na região perianal, relatando que sofre de doença hemorroidária externa. O doente garante a inexistência de sangue nas fezes e, ao longo da conversa com o mesmo, constato que o sintoma que mais o incomoda é a dor e o ardor. Desta forma, decido dispensar o MNSRM Procto-Glyveno[®], que na sua composição tem tribenosido e lidocaína (sob a forma de cloridrato de lidocaína) a 50 mg/g e 20 mg/g, respetivamente (31). O tribenosido tem um efeito anti-inflamatório e melhora o tónus vascular, podendo também exercer efeitos anestésicos (32). A lidocaína é um anestésico local que colmata a dor, ardor e o prurido, muitas vezes causados pela doença hemorroidária (32). Explico ao doente que deverá lavar muito bem as mãos antes e depois da aplicação do creme, que deve ser feita duas vezes por dia, de manhã e à noite, até melhoria dos sintomas. Depois disso, aplicar uma vez por dia. Recomendei a aplicação por um máximo de duas semanas e informei que, antes da aplicação do creme, deveria também higienizar adequadamente a região anal.

Para diminuir o esforço defecatório e, desta forma, promover um alívio sintomático, disse ao doente que era benéfico dispensar-lhe também um laxante. Neste seguimento, pergunta-me a minha opinião acerca do laxante Bekunis[®], visto que tem uma embalagem em casa que pode usar. Expliquei-lhe que as substâncias ativas que compõem o Bekunis[®] são

laxantes estimulantes que aumentam o peristaltismo intestinal, podendo causar cólicas e desconforto abdominal (33). Nesta situação, no sentido de diminuir o esforço fecal, o mais indicado são laxantes que diminuam a consistência das fezes. A lactulose, um laxante osmótico, tem um bom perfil de segurança e por isso torna-se a opção mais adequada para este doente (34). Dispensei Lactulose Generis® 10g/15mL em saquetas. Indiquei uma toma inicial de uma saqueta por dia, à noite, e avisei que poderia haver um período de alguns dias sem sentir efeito. Referi que o doente poderia sentir flatulência, que ao longo do tratamento deveria desaparecer. Aconselhei a ingestão de bastante água, mas também de fibras, importantes para prevenir cenários de diarreia causados pela lactulose.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considero que um EC em Farmácia comunitária é um passo essencial para um estudante de MICEF. Este estágio contribuiu para que eu estabelecesse de forma clara o farmacêutico como um intermediário indispensável entre os doentes e serviços de prestação de saúde.

Sinto-me extremamente grata por ter tido a oportunidade de realizar este estágio na FSJ, uma farmácia altamente movimentada, com uma equipa técnica que rege pelo rigor e companheirismo. A minha experiência na FSJ forneceu-me ferramentas valiosas para lidar com o público e para aprofundar os meus conhecimentos visando sempre a promoção da saúde pública. Tudo isto, enquanto me acolhiam num ótimo ambiente de trabalho, um ambiente que promovia a aprendizagem e o bem-estar. Findos estes quatro meses, considero-me mais pronta a enfrentar futuros desafios e levarei comigo todos os valiosos ensinamentos que me foram transmitidos por toda a equipa.

Agradeço à FFUC pela oportunidade, e a todos os membros da equipa da FSJ por uma experiência incalculavelmente enriquecedora e por com eles ter criado amigos que certamente prevalecerão. Agradeço profundamente ao Dr. Paulo Monteiro pela simpatia fora de série, aptidão inata para ensinar e pela forma como recebe todos os estagiários.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) **Deliberação n.º 1502/2014**, de 3 de julho. Diário da República, 2.ª série, n.º 145, 2014. Conselho Diretivo do INFARMED, I.P.
- (2) **Decreto-Lei n.º 53/2007**, de 8 de março. Diário da República n.º 48/2007, Série I de 2007-03-08, 1492–1493. Ministério da Saúde.
- (3) **Portaria n.º 97/2018**, de 9 de abril. Diário da República n.º 69/2018, Série I de 2018-04-09, 1556–1557. Ministério da Saúde.
- (4) Ordem dos Farmacêuticos - **Norma Geral - Preparação Individualizada da Medicação (PIM)**. [Acedido a 4 de março de 2023]. Disponível em: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/qualidade/norma_pim_vfinal_30_nge_00_010_02_1834827175bf58d479434f.pdf
- (5) **Portaria n.º 224/2015**, de 27 de julho. Diário da República n.º 144/2015, Série I de 2015-07-27, 5037 - 5043. Ministério da Saúde.
- (6) **Portaria n.º 223/2015**, de 27 de julho. Diário da República n.º 144/2015, Série I de 2015-07-27, 5034–5037. Ministério da Saúde.
- (7) OECD and European Observatory on Health Systems and Policies. **Portugal: Country Health Profile 2021**. OECD, 2021. ISBN 9789264879324.
- (8) Instituto Nacional de Estatística. **Estatísticas da Saúde: 2021**. Lisboa: INE, 2023. [Acedido a 8 de março de 2023]. Disponível em: <https://www.ine.pt/xurl/pub/11677508>.
- (9) ARNETT, Donna K. *et al.* - 2019 ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. **Circulation**. ISSN 0009-7322. 140:11 (2019). doi: 10.1161/CIR.0000000000000677.
- (10) BOURBON, Mafalda; ALVES, Ana Catarina; RATO, Quitéria - **Prevalência de fatores de risco cardiovascular na população portuguesa**. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA, IP), 2019.
- (11) **Decreto-Lei n.º 134/2005, de 16 de agosto**. Diário da República n.º 156/2005, Série I-A de 2005-08-16, 4763–4765. Ministério da Saúde.
- (12) **Ordem dos Farmacêuticos - Medicamentos mais baratos aumentam de preço para diminuir ruturas, 2023** [Acedido a 8 de março de 2023]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/noticias/medicamentos-mais-baratos-aumentam-de-preco-para-diminuir-ruturas/>

- (13) MAISTO, Maria *et al.* - Natural Polyphenols for Prevention and Treatment of Urinary Tract Infections. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 1422-0067. 24:4 (2023) 3277. doi: 10.3390/ijms24043277.
- (14) HOWELL, Amy B. - Bioactive compounds in cranberries and their role in prevention of urinary tract infections. **Molecular Nutrition & Food Research**. ISSN 16134125. 51:6 (2007) 732–737. doi: 10.1002/mnfr.200700038.
- (15) JEPSON, Ruth G.; WILLIAMS, Gabrielle; CRAIG, Jonathan C. - Cranberries for preventing urinary tract infections. **Cochrane Database of Systematic Reviews**. ISSN 14651858. 2014:6 (2012). doi: 10.1002/14651858.CD001321.pub5.
- (16) SHARIFI-RAD, Mehdi *et al.* - Echinacea plants as antioxidant and antibacterial agents: From traditional medicine to biotechnological applications. **Phytotherapy Research**. ISSN 0951418X. 32:9 (2018) 1653–1663. doi: 10.1002/ptr.6101.
- (17) MONTORSI, Francesco *et al.* - Effectiveness of a Combination of Cranberries, Lactobacillus rhamnosus, and Vitamin C for the Management of Recurrent Urinary Tract Infections in Women: Results of a Pilot Study. **European Urology**. ISSN 03022838. 70:6 (2016) 912–915. doi: 10.1016/j.eururo.2016.05.042.
- (18) LING, Zongxin *et al.* - The Restoration of the Vaginal Microbiota After Treatment for Bacterial Vaginosis with Metronidazole or Probiotics. **Microbial Ecology**. ISSN 0095-3628. 65:3 (2013) 773–780. doi: 10.1007/s00248-012-0154-3.
- (19) PIROTTA, Marie V.; GARLAND, Suzanne M. - Genital Candida Species Detected in Samples from Women in Melbourne, Australia, before and after Treatment with Antibiotics. **Journal of Clinical Microbiology**. ISSN 0095-1137. 44:9 (2006) 3213–3217. doi: 10.1128/JCM.00218-06.
- (20) SHENOY, Adele; GOTTLIEB, Alice - Probiotics for oral and vulvovaginal candidiasis: A review. **Dermatologic Therapy**. ISSN 1396-0296. 2019) e12970. doi: 10.1111/dth.12970.
- (21) CANTABRIA LABS - **Baciginal® Oral 5**. [Acedido a 3 de maio de 2023]. Disponível em: <https://www.pharmanord.pt/produtos/bio-selenio-zinco>
- (22) CANCIANI, Mario *et al.* - Efficacy of Grintuss® pediatric syrup in treating cough in children: a randomized, multicenter, double blind, placebo-controlled clinical trial. **Italian Journal of Pediatrics**. ISSN 1824-7288. 40:1 (2014) 56. doi: 10.1186/1824-7288-40-56.
- (23) PAUL, Ian M. - Effect of Honey, Dextromethorphan, and No Treatment on Nocturnal Cough and Sleep Quality for Coughing Children and Their Parents. **Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine**. ISSN 1072-4710. 161:12 (2007) 1140. doi: 10.1001/archpedi.161.12.1140.

- (24) ABOCA – **Grintuss Adult Xarope**. [Acedido a 6 de maio de 2023]. Disponível em: <https://www.aboca.com/pt-pt/produto/grintuss-adult-xarope/>
- (25) BioActivo – **Selénio + Zinco – Sistema Imunitário | Tiróide**. [Acedido a 6 de maio de 2023]. Disponível em: <https://www.pharmanord.pt/produtos/bio-selenio-zinco>
- (26) VENTURA, Mara; MELO, Miguel; CARRILHO, Francisco - Selenium and Thyroid Disease: From Pathophysiology to Treatment. **International Journal of Endocrinology**. ISSN 1687-8337. 2017:2017) 1–9. doi: 10.1155/2017/1297658.
- (27) WANG, Fei *et al.* - Selenium and thyroid diseases. **Frontiers in Endocrinology**. ISSN 1664-2392. 14:2023). doi: 10.3389/fendo.2023.1133000.
- (28) LIU, Lei *et al.* - Efficacy of nasal irrigation with hypertonic saline on chronic rhinosinusitis: systematic review and meta-analysis. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**. ISSN 18088694. 86:5 (2020) 639–646. doi: 10.1016/j.bjorl.2020.03.008.
- (29) INFARMED, I.P. - **Resumo das Características do Medicamento: Vibrocil Actilong**. [Acedido a 20 de maio de 2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
- (30) FOWLER, James; CHIN, Christopher J.; MASSOUD, Emad - Rhinitis medicamentosa: a nationwide survey of Canadian otolaryngologists. **Journal of Otolaryngology - Head & Neck Surgery**. ISSN 1916-0216. 48:1 (2019) 70. doi: 10.1186/s40463-019-0392-1.
- (31) INFARMED, I.P. - **Resumo das Características do Medicamento: Procto-Glyvenol**. [Acedido a 25 de maio de 2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
- (32) LORENC, Z.; GÖKÇE, Ö. - Tribenoside and lidocaine in the local treatment of hemorrhoids: an overview of clinical evidence. **European review for medical and pharmacological sciences**. ISSN 2284-0729. 20:12 (2016) 2742–51.
- (33) INFARMED, I.P. - **Resumo das Características do Medicamento: Bekunis**. [Acedido a 1 de junho de 2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
- (34) INFARMED, I.P. - **Resumo das Características do Medicamento: Lactulose**. [Acedido a 1 de junho de 2023]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>

6. ANEXO

Ficha de Preparação do Manipulado								
Papéis 2,5 g Benzoato de Sódio								
Cliente:	[REDACTED]							
Forma Farmacêutica:	PAPEL MEDICAMENTOSO							
Data de Preparação:	24/01/2023	Prazo Validade :		23/07/2023				
Nº Lote :	21.1.23	Registo Copiador :		3.065				
Condições de Conservação :	Em local seco e fresco							
Posologia:	2 id							
Qtd. Total Medicamento :	1 X	120,00	uni					
Director Técnico :	[REDACTED]							
Operador :	[REDACTED]							
Médico:	[REDACTED]							
Honorários:	5,52 €	Valor Net :	138,22 €					
Factor Multiplicativo:	17,00	Valor IVA :	8,29 €					
		Valor Total:	146,51 €					
		Valor PVP		146,51 €				

Matérias Primas	Usar	Nº Lote	Origem	Qtd. Usada	Unid	Preço Aq. s/ IVA	Factor Multiplic.	Preço Mat.prima
Benzoato de Sódio		224938-J-	Acofarma	100,00	g	0,05 €	1,60	8,32 €
Benzoato de Sódio		224938-P-	Acofarma	200,00	g	0,01 €	1,60	4,16 €
							Subtotal	12,48 €

Preparação				
Verificar o estado de limpeza e conservação do material e laboratório				
Pesar em cada papel 2,5 g de benzoato de sódio.				
Fechar após cada pesagem o respectivo papel.				
Proceder ao controlo de qualidade				
Embalar e rotular.				
Limpar e arrumar o laboratório.				

Ensaio	Especificação	Conforme	Utilizador	Assinatura
Quantidade	120 papéis	<input checked="" type="checkbox"/>	[REDACTED]	[REDACTED]
Aspecto	Homogéneo	<input checked="" type="checkbox"/>	[REDACTED]	[REDACTED]
Odor	Inodoro	<input checked="" type="checkbox"/>	[REDACTED]	[REDACTED]
Cor	Esbranquiçada	<input checked="" type="checkbox"/>	[REDACTED]	[REDACTED]

24/01/2023
 (Data)

[REDACTED]
 (Assinatura)

Figura I - Ficha de Preparação de Papéis Medicamentosos de Benzoato de Sódio 2,5g.
 Fonte: Autoria Própria

Ficha de Preparação do Manipulado

Pomada Permetrina 5%

Cliente: [REDACTED]
 Forma Farmacêutica: POMADA
 Data de Preparação: 18/01/2023 Prazo Validade : 18/04/2023
 N° Lote : 25.1.23 Registo Copiador : 3.055
 Condições de Conservação :
 Posologia:
 Qtd. Total Medicamento : 1 X 200,00 g
 Director Técnico : [REDACTED]
 Operador : [REDACTED]
 Médico: [REDACTED]

Honorários:	5,52 €	Valor Net :	52,74 €	Valor PVP
Factor Multiplicativo:	4,00	Valor IVA :	3,16 €	
		Valor Total:	55,90 €	

Matérias Primas	Usar	N° Lote	Origem	Qtd. Usada	Unid	Preço Aq. s/ IVA	Factor Multiplic.	Preço Mat.prima
Vaselina Branca		224769-P-	Acofarma	190,00	g	0,04 €	1,60	13,38 €
Permetrina		22B01-T1	Fagron	10,00	g	0,16 €	1,90	3,04 €
Subtotal								16,42 €

Preparação
Verificar o estado de limpeza e conservação do material e laboratório.
Pesar a permetrina e colocar no unguator.
Juntar a base até prefazer a massa total.
Homogeneizar.
Fechar e rotular
Limpar e arrumar o laboratório.

Embalagem	Tipo	N° Lote	Fornecedor	Capac	Qtd	Preço	Fact. Mult.	Valor Net
Unguator 200/280	EMBAL		Fagron	200/280	1,00	1,72 €	1,20	2,07 €
Subtot								2,07 €

Ensaio	Especificação	Conforme	Utilizador	Assinatura
Cor	Esbranquiçada	<input checked="" type="checkbox"/>		
Odor	Inodoro	<input checked="" type="checkbox"/>		
Aspecto	Homogéneo	<input checked="" type="checkbox"/>		
Quantidade	200 g +/- 5%	<input checked="" type="checkbox"/>		

18/01/2023
(Data)

[REDACTED]
(Assinatura)

**Figura 2 - Ficha de Preparação de Pomada de Permetrina a 5%.
Fonte: Autoria Própria**

Ficha de Preparação do Manipulado

Cápsulas de Ivermectina 10mg

Cliente: XXXXXXXXXX
 Forma Farmacêutica: CAPSULA
 Data de Preparação: 18/01/2023 Prazo Validade : 17/07/2023
 Nº Lote : 24.1.22 Registo Copiador : 3.054
 Condições de Conservação : Em local seco e fresco e recipiente bem fechado.
 Posologia:
 Qtd. Total Medicamento : 1 X 2,00 uni
 Director Técnico : XXXXXXXXXX
 Operador : XXXXXXXXXX
 Médico: XXXXXXXXXX

Honorários:	5,52 €	Valor Net :	33,36 €
Factor Multiplicativo:	4,50	Valor IVA :	2,00 €
		Valor Total:	35,36 €

Valor PVP
35,36 €
34,30

Matérias Primas	Usar	Nº Lote	Origem	Qtd. Usada	Unid	Preço Aq. s/ IVA	Factor Multiplic.	Preço Mat.prima
Lactose	1.095	215682	Fagron	1,09 g		0,02 €	2,20	0,05 €
Ivermectina	0.020	21H27-H0	Fagron	0,02 mg		0,02 €	2,80	0,00 €
Subtotal								0,05 €

Preparação
Verificar o estado de limpeza e conservação do material e laboratório.
Pesar a ivermectina e o diluente (lactose) - Cálculos Método Algébrico.
Misturar a s.a. e o diluente num almofariz de porcelana pelo método de diluição geométrica, misturando um corante se necessário.
Proceder ao encapsulamento.
Colocar em frasco de vidro e rotular.
Limpar e arrumar o laboratório.
Aparelhagem
Balança electrónica

Embalagem	Tipo	Nº Lote	Fornecedor	Capac	Qtd	Preço	Fact. Mult.	Valor Net
Frasco de Vidro 60 mL	EMBAL	108168	Guinama	60 mL	1,00	0,61 €	1,20	0,73 €
Cápsulas nº0	EMBAL	226624-CB-1	Acofarma	0,68 mL	2,00	0,02 €	1,20	0,04 €
Subtot								0,77 €

Ensaio	Especificação	Conforme	Utilizador	Assinatura
Quantidade	2 unidades	<input checked="" type="checkbox"/>		
Cor	Esbranquiçada	<input checked="" type="checkbox"/>		
Odor	Inodoro	<input checked="" type="checkbox"/>		
Aspecto	Mistura de pó homogénea	<input checked="" type="checkbox"/>		

18/01/2023
(Data)

XXXXXXXXXX
(Assinatura)

Figura 3 - Ficha de Preparação de Cápsulas de Ivermectina 10mg.
(Fonte: Autoria Própria)

Ficha de Preparação do Manipulado

Sol. de Lidocaína 2% e Nistatina em Bicarbonato de

Cliente: XXXXXXXXXX
 Forma Farmacêutica: SOLUÇÃO
 Data de Preparação: 21/03/2023 Prazo Validade : 20/05/2023
 Nº Lote : 22.III.23 Registo Copiador : 3.147
 Condições de Conservação : Em recipiente bem fechado e em local seco e fresco.
 Posologia:
 Qtd. Total Medicamento : 1 X 250,00 ml
 Director Técnico : XXXXXXXXXX
 Operador : XXXXXXXXXX
 Médico: XXXXXXXXXX

Honorários:	5,52 €	Valor Net :	33,46 €	Valor PVP
Factor Multiplicativo:	3,75	Valor IVA :	2,01 €	
		Valor Total:	35,47 €	

Matérias Primas	Usar	Nº Lote	Origem	Qtd. Usada	Unid	Preço Aq. s/ IVA	Factor Multiplic.	Preço Mat.prima
Bicarbonato de Sódio		TOS10421	LabChem	3,50	g	0,00 €	2,20	0,02 €
Água Purificada		0001.2020	J. M. Vaz Pereira	250,00	g	0,01 €	1,60	4,00 €
Subtotal								4,02 €

Produto	Cod de Iva	% Iva	P.V.P	Preço
Mycostatin susp. oral 30 mL (CX50)	RED	6,00	0,00 €	0,00 €
Ildonostrum 20mg/mL Gel Oral (Lt 2202AA)	RED	6,00	0,00 €	0,00 €

Preparação
Verificar o estado de limpeza e conservação do material e laboratório.
Preparar a solução de bicarbonato de sódio a 1,4% dissolvendo 3,5g de bicarbonato de sódio em 250 mL de água destilada.
Agitar bem até completa dissolução.
Medir 15 mL de Lidonostrum 2% e transferir para proveta graduada de 250 mL.
Transferir os 30 mL do frasco de Mycostantin para a proveta de 250 mL que já contém o Lidonostrum.
Completar o volume até 250 mL com a solução de bicarbonato de sódio 1,4% e agitar bem.
Transferir a solução para um frasco de vidro.
Fechar e rotular a embalagem.
Limpar e arrumar o laboratório.

Embalagem	Tipo	Nº Lote	Fornecedor	Capac	Qtd	Preço	Fact. Mult.	Valor Net
Frasco de Vidro 250 mL	EMBAL		Plural	250 mL	1,00	0,85 €	1,20	1,02 €
Subtot								1,02 €

Ensaio	Especificação	Conforme	Utilizador	Assinatura
Cor	Esbranquiçada	<input checked="" type="checkbox"/>		
Odor	Inodoro	<input checked="" type="checkbox"/>		
Aspecto	Homogéneo	<input checked="" type="checkbox"/>		
Quantidade	250 mL +/- 5%	<input checked="" type="checkbox"/>		

21/03/2023

(Data)

(Assinatura)

Figura 4 - Ficha de preparação de uma solução de lidocaína a 2% com nistatina e bicarbonato de sódio a 1,4%.

(Fonte: Autoria Própria)

Nome do Paciente [Redacted] Código do Paciente [Redacted]
 Nome da Farmácia S. José - Coimbra Tel. Farmácia 239484497
 Data da preparação 20/01/2023 Semana de / a _____ Médico Prescritor _____

Recomendações

- O seu farmacêutico preparou este PIM (Preparação Individualizada da Medicação) para facilitar a administração dos seus medicamentos.
- Tome os medicamentos deste blister respeitando o dia da semana e o momento do dia.
- Se o seu médico alterou a sua medicação informe o seu farmacêutico.
- Se necessita de informações sobre os medicamentos colocados no blister pergunte ao seu farmacêutico.
- Conserve este blister com os medicamentos em lugar fresco, seco, protegido da luz solar e fora do alcance das crianças.

Medicamento	Dose	Via	JJ	PA	AL	L	JT	DT	SOS
Escitalopram	10 mg	PO		1					
Levetiracetam	500 mg	PO		1	1				
Levetiracetam	1000 mg	PO					1		
Furosemida	40 mg	PO	1						
Risperidona	1 mg	PO		1/2			1/2		

Manter fora do alcance e da vista das crianças
 Conservar em local fresco, seco e ao abrigo da luz



Figura 5 - Registo fotográfico da PIM de um utente da FSJ.
 (Fonte: Autoria Própria)

Lista de Controlo de Prazos de Validades

Expiram entre 07-2023 e 07-2023 no local FARMACIA SAO JOSE

Ord.	Código	Designação	Lote	Stock	Pratel.	Validade	Correcção
Prateleira ROBOT							
1	5033162	Aceclofenac Ratiopharm MG, 100 mg x 60 comp rev	LOTE ÚNICO	2	ROB	07-2023	___ - ____
2	5838396	Ácido Alendrónico Tetrafarma MG, 70 mg x 4 comp rev	LOTE ÚNICO	3	ROB	07-2023	___ - ____
3	6412650	Advancis Nasocare Spray Nasal Isoton 20ml	LOTE ÚNICO	12	ROB	07-2023	___ - ____
4	2797389	Aldara, 12,5 mg/250 mg x 12 creme saq	LOTE ÚNICO	1	ROB	07-2023	___ - ____
5	4182887	Alprazolam Ratiopharm MG, 0,25 mg x 60 comp	LOTE ÚNICO	2	ROB	07-2023	___ - ____
6	4183786	Alprazolam Ratiopharm MG, 0,5 mg x 60 comp	LOTE ÚNICO	3	ROB	07-2023	___ - ____
7	5605712	Anoro Elipta (30 doses), 55/22 mcg x 1 pó inal unidose	LOTE ÚNICO	3	ROB	07-2023	___ - ____
8	5370127	Arankelle MG, 3/0,02 mg x 21 comp rev	LOTE ÚNICO	13	ROB	07-2023	___ - ____
9	2719789	Benzac 5, 50 mg/g Bisnaga 40 g Gel	LOTE ÚNICO	12	ROB	07-2023	___ - ____
10	7061937	Bepanthen Baby Pda Muda Fralda 50G	LOTE ÚNICO	1	ROB	07-2023	___ - ____
11	6412536	Bepanthen Eczema Cr 50g	LOTE ÚNICO	28	ROB	07-2023	___ - ____
12	9742809	Bertocil, 5 mg/mL-5 mL x 1 sol col	LOTE ÚNICO	5	ROB	07-2023	___ - ____
13	5106059	Bglau MG, 2 mg/mL-5 mL x 1 sol col	LOTE ÚNICO	5	ROB	07-2023	___ - ____
14	6226498	Bisolduo Pastilha 2em1 Limao Eucalpto X18	LOTE ÚNICO	12	ROB	07-2023	___ - ____
15	3601788	Brisomax Diskus (60 doses), 500/50 mcg/dose x 1 pó inal unidose	LOTE ÚNICO	3	ROB	07-2023	___ - ____
16	5368246	Candesartan Alter MG, 8 mg x 28 comp	LOTE ÚNICO	4	ROB	07-2023	___ - ____
17	5432562	Candesartan Ciclum MG, 16 mg x 56 comp	LOTE ÚNICO	1	ROB	07-2023	___ - ____
18	9729509	Cartia, 100 mg x 28 comp gastrorresistente	LOTE ÚNICO	34	ROB	07-2023	___ - ____
19	7511816	Ceregumil Xar 200 MI xar mL	LOTE ÚNICO	2	ROB	07-2023	___ - ____
20	5008925	Cialis, 5 mg x 28 comp rev	LOTE ÚNICO	3	ROB	07-2023	___ - ____
21	5076589	Ciproterona + Etilnlestradiol Generis MG, 2/0,035 mg x 63 comp rev	LOTE ÚNICO	2	ROB	07-2023	___ - ____
22	2922698	Clavamox DT 400 (70mL), 400/57 mg/5 mL x 1 pó susp oral medida	LOTE ÚNICO	9	ROB	07-2023	___ - ____
23	8446401	Colircusi Gentadexa (10mL), 1/3/0,5 mg/mL x 1 sol oto-ofr frasco	LOTE ÚNICO	5	ROB	07-2023	___ - ____
24	5742333	Dilabion (60 g), 0,5/0,05 mg/g x 1 pda	LOTE ÚNICO	10	ROB	07-2023	___ - ____
25	9486514	Diprosalic (100mL), 20/0,5 mg/g x 1 sol cut	LOTE ÚNICO	3	ROB	07-2023	___ - ____
26	5431713	Dormidina, 25 mg x 14 comp rev	LOTE ÚNICO	4	ROB	07-2023	___ - ____
27	5803002	Ducessa, 1 mg/ml + 5 mg/ml Frasco 5 ml Col, sol	LOTE ÚNICO	2	ROB	07-2023	___ - ____
28	5015649	Elontril, 150 mg x 30 comp lib mod	LOTE ÚNICO	15	ROB	07-2023	___ - ____
29	5716782	Enalapril/Hidroclorotiazida Bluepharma MG, 20 mg + 12,5 mg Blister 60 Unidade(s) Comp	LOTE ÚNICO	1	ROB	07-2023	___ - ____
30	5634456	Enalapril/Lercanidipina Teva MG, 20 mg + 10 mg Blister 56 Unidade(s) Comp revest pelic	LOTE ÚNICO	1	ROB	07-2023	___ - ____
31	5670146	Entresto, 97/103 mg x 28 comp rev	LOTE ÚNICO	2	ROB	07-2023	___ - ____
32	3256385	Etalpa, 0,5 mcg x 30 cáps	LOTE ÚNICO	5	ROB	07-2023	___ - ____
33	5731823	Ezetimiba Pentafarma MG, 10 mg x 28 comp	LOTE ÚNICO	5	ROB	07-2023	___ - ____
34	5732102	Ezetimiba Tetrafarma MG, 10 mg x 28 comp	LOTE ÚNICO	11	ROB	07-2023	___ - ____
35	5424254	Floxedol, 1,5 mg/0,5 mL x 30 sol col	LOTE ÚNICO	4	ROB	07-2023	___ - ____
36	5204441	Floxedol, 3 mg/mL-10 mL x 1 gel ofr frasco	LOTE ÚNICO	47	ROB	07-2023	___ - ____
37	5099528	Genexin, 150 mg x 30 comp lib prol	LOTE ÚNICO	2	ROB	07-2023	___ - ____
38	7392464	Hyabak Caps X60	LOTE ÚNICO	2	ROB	07-2023	___ - ____
39	4892782	Itraconazol Alter MG, 100 mg x 32 cáps	LOTE ÚNICO	1	ROB	07-2023	___ - ____
40	5422514	Komboglyze, 850/2,5 mg x 56 comp rev	LOTE ÚNICO	1	ROB	07-2023	___ - ____

Impressão:30-01-2023 11:16:54

Operador: [REDACTED]

Página 1

Figura 6 - Listagem que permite o controlo dos prazos de validade e stock.
 (Fonte: Autoria Própria)

CAPÍTULO II

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

GENERIS® FARMACÊUTICA, S.A

Orientado pela Engenheira Sónia Oliveira

Lista de Abreviaturas

API – *Active Pharmaceutical Ingredient*

CIPP - Controlo Integrado de Pesagens em Produção

ERP - *Enterprise Resource Planning*

FAB – Departamento do Fabrico

IF – Instrução de Fabrico

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

IPC - *In Process Control*

I&D – Investigação e Desenvolvimento

MP – Matéria-Prima

SNS – Serviço Nacional de Saúde

SU – *Stock Units*

SWOT - Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats

INTRODUÇÃO

Um medicamento genérico é um medicamento com igual composição qualitativa e quantitativa em substâncias ativas e a mesma forma farmacêutica que o medicamento que lhe serviu de referência, tendo de demonstrar bioequivalência com o mesmo através de estudos de biodisponibilidade adequados (1). Retirando o custo da Investigação & Desenvolvimento (I&D) ao custo total do desenvolvimento do medicamento, as empresas que fabricam genéricos podem praticar preços mais baixos sem que com isso sofram prejuízo (3).

Para assegurar o acesso equitativo ao medicamento, o Estado português, através do Serviço Nacional de Saúde (SNS), financia uma parte do preço dos medicamentos através de um sistema de comparticipação. Para diminuir a pressão económica sentida em Portugal, houve uma implementação de diversas medidas numa tentativa de reduzir a despesa pública (2,3). Muitas destas medidas beneficiaram o uso de medicamentos genéricos em detrimento dos respetivos medicamentos de referência, resultando numa diminuição de despesa Estatal em saúde (3). O mercado dos genéricos está, então, em crescimento em Portugal (4).

A Generis® Farmacêutica, S.A. é uma empresa que se dedica à produção e comercialização de medicamentos genéricos, com um portefólio que abrange mais de 85% das áreas terapêuticas. Decidi realizar um estágio curricular na área do fabrico, pois queria assistir à transposição do que fazia nas aulas práticas, à escala laboratorial, para uma escala industrial.

O departamento do fabrico (FAB) em que realizei o meu Estágio Curricular localiza-se na Venda Nova, no concelho de Amadora e está aberta 24 horas por dia, 6 dias por semana. Os funcionários executam turnos de 8 horas, sendo que foi decidido que eu iria acompanhar um turno completo, das 7h30 até às 16h. O meu estágio foi orientado pela Engenheira Sónia Oliveira e este relatório irá iniciar-se com um breve resumo das instalações e equipamentos, seguido por uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*), através da qual enumerarei Pontos Fortes, Pontos Fracos, Oportunidades e Ameaças.

I. A UNIDADE FABRIL

A zona limpa da unidade de produção, na qual se insere o FAB, é separada da zona suja, o exterior, por um banco nos vestiários. Ao passar o banco, não devem ser levados quaisquer objetos do exterior, acessórios nem materiais suscetíveis de contaminar esta unidade. Um pequeno esquema do FAB encontra-se em Anexo, na Figura I.

O sistema informático utilizado no FAB é o SAP que é, por definição, um *Enterprise Resource Planning* (ERP), um sistema informático de gestão integrada no qual a introdução de diferentes códigos de transação permite o acesso aos diferentes menus. Estes menus permitem o acesso às diferentes atividades da unidade fabril. Por outro lado, a Instrução de Fabrico (IF)

é o documento que compila todas as informações e registros referentes a cada lote fabricado: os materiais utilizados, as operações de fabricação e os controles em processo. Para o fabrico de um lote, o FAB requer o avião das matéria-primas (MPs) necessárias no programa SAP, sendo que o avião em si é da responsabilidade do armazém. O avião traduz-se na passagem das *stock units* (SU) do armazém para o FAB. Encontra-se em Anexo, na Figura 2, o registro fotográfico de uma SU de uma MP. Relativamente ao registro de todos os procedimentos, há *logbooks* nos quais são registados todos os procedimentos efetuados e a sua duração, por ordem cronológica. Todas as salas carecem de validação diária, que pode incluir a verificação dos diferenciais de pressão a verificação das balanças com massas padrão, entre outros.

1.1. Centro de Pesagens

Há duas salas de pesagens: a E1/005 e a D2/006, que contêm balanças colocadas dentro de uma câmara de fluxo laminar. A sala E1/005 possui três balanças, uma das quais é analítica, onde podem ser executadas as medições mais minuciosas, enquanto a sala D2/006 tem apenas duas. As gamas das balanças são de 10 quilogramas, 100 quilogramas e 150 gramas na balança analítica. A pesagem é facilitada pelo programa Controlo Integrado de Pesagens em Produção (CIPP), que está diretamente associado ao SAP. Quando os doseamentos do API (*active pharmaceutical ingredient*) requerem acerto de potência, indicado pelo controlo de qualidade, é necessário fazer um acerto das quantidades de API e excipiente compensante a pesar. Depois da pesagem das MPs, as substâncias são enviadas para as áreas de produto em processo, podendo ser enviadas para os diversos centros de trabalho.

1.2. Salas de Granulação

As salas 4005 e 601, são salas onde se efetua a mistura, granulação, secagem e calibração das MPs previamente pesadas. As salas 4005 e 601 são apelidadas “Diosna” ou “IMA”, respetivamente, nomes que derivam dos seus equipamentos. Diferem, pois na sala “Diosna” o equipamento constitui um sistema fechado em que o produto está fisicamente separado do meio exterior durante todo o processo. Um esquema da sala “Diosna” está presente na Figura 3, em Anexo. Já na sala “IMA”, o produto intermediário é acessível ao operador, sendo o mesmo a transferi-lo de uma fase para a seguinte. As salas incluem um misturador-granulador *high-shear*, localizado numa plataforma, conectado a um calibrador que uniformiza a granulometria do granulado húmido. Os grânulos são depois secos numa estufa de leito fluidizado e, por fim, calibrados. Para o fabrico de lotes de menor dimensão e de I&D, são usados equipamentos com 10% de capacidade à escala dos equipamentos industriais.

A granulação pode ser feita sem de líquido de granulação, usado o compactador, cujo princípio de funcionamento é o da transformação da mistura inicial numa placa que é calibrada contra uma rede, especificada para cada produto, originando grânulos uniformes.

1.3. Compressão, Revestimento e Enchimento de Cápsulas

Para o fabrico de comprimidos, há vários equipamentos que podem ser usados. Há seis máquinas de compressão: a Fette FE 55[®], Killian BB[®], Fette 2200i[®], Unipress B[®], X-Press D[®] e Killian D[®] cujo número de punções superiores, punções inferiores e matrizes são 47, 32, 30, 27, 22 e 21, respetivamente. O armazenamento dos conjuntos de punções e matrizes é efetuado em caixas numeradas no equipamento designado por Armazém vertical Hännel Lean Lift Ecodriver[®]. Apesar de distintas, as máquinas de compressão seguem o mesmo princípio, que se baseia na compressão de um pó ou granulado em comprimidos sólidos e está representado na Figura 4, em Anexo.

Os comprimidos são submetidos a diversos testes de Controlo de Processo, como a medição de massa, numa balança analítica, a espessura, a dureza e as dimensões num durabilómetro e a friabilidade, num friabilómetro. O ensaio de desagregação é realizado num aparelho a isso destinado, na sala do *In Process Control* (IPC).

Há três equipamentos distintos para o revestimento de comprimidos: a GS HT 25[®], a GS HT 150[®] e a GS HT 300[®], que diferem na capacidade máxima de carga, no número de pistolas de atomização e de pás perfuradas. O revestimento traduz-se na aplicação de uma suspensão líquida, orgânica ou aquosa que, através de um fluxo de ar comprimido, a pulveriza para revestir os núcleos.

A máquina de enchimento de cápsulas da Generis[®] é a Zanasi 40 E[®], sendo que na Figura 5, em Anexo, está presente uma representação esquemática da mesma. O equipamento é alimentado por gravidade e também por gravidade são fornecidas as cápsulas vazias, para um recipiente que é reabastecido manualmente ao longo do processo. A Zanasi[®] está equipada com um sistema de controlo que retira amostras aleatórias, de 30 em 30 segundos, e as pesa numa balança analítica integrada, colocada à saída do local de ejeção.

2. ANÁLISE SWOT

2.1. Pontos fortes (Strengths)

2.1.1. Plano de estágio

Um plano de estágio contribui para definição clara de uma estrutura de trabalho, com objetivos, tarefas e prazos, o que facilita a organização do estagiário e também dos

colaboradores da empresa. Serve também como um guia que identifica as áreas do conhecimento e competências que devem ser adquiridas durante o período do estágio.

A divisão sequencial que foi feita no meu plano de estágio contribuiu para que tivesse em mente, de forma muito clara, a sucessão de atividades que se realizam na unidade fabril, visto que acompanhei o percurso que as MPs fazem até se tornarem produto a granel. O estágio seguiu um padrão semanal: de segunda a quinta-feira acompanharia um operador numa determinada sala e sexta-feira dedicar-me-ia à escrita de um resumo semanal que teria de enviar à minha orientadora de estágio. No final de cada semana, sentia-me familiarizada com os equipamentos e gradualmente mais integrada no departamento.

2.1.2. Equipa

Semanalmente, ao mudar de sala, a minha aprendizagem ficava ao encargo do operador que nela estivesse a executar funções. A maioria dos operadores encarregues das salas têm um conhecimento extensivo do equipamento e considero uma mais-valia ter aprendido com a sua experiência e perícia. Adicionalmente, os operadores que me acompanharam foram bastante eloquentes a explicar o funcionamento do aparelho e as técnicas para ultrapassar determinados obstáculos. A equipa de supervisores do FAB é muito jovem e com grande entusiasmo para integrar estagiários, fazendo com que me sentisse confortável a colocar questões. A heterogeneidade da equipa foi benéfica para a minha aprendizagem, pois apesar de absorver todos os valores transmitidos pelos membros jovens, foi-me transmitido o conhecimento e sabedoria dos membros mais experientes.

2.1.3. Equipamentos

A fábrica da Generis® está equipada com equipamentos de alta qualidade e capacidade e permite que o estagiário, para além de absorver o conhecimento básico das atividades para uma unidade de FAB, contacte também com máquinas de última geração. Algumas das máquinas com as quais contactei e manobrei são máquinas extremamente recentes, adquiridas por muito poucas empresas farmacêuticas em Portugal. Um destes exemplos é a máquina de compressão Fette FE 55®, cujo registo fotográfico se encontra em Anexo, na Figura 6. Esta apresenta a possibilidade de produzir comprimidos de uma ou duas camadas e possui, ao contrário dos outros equipamentos de compressão, 3 rodas de compressão. Para além desta, o *checkweigher* KKE®, presente na sala de enchimento de cápsulas, permite a pesagem de 100% de todas as cápsulas produzidas. Efetua 8 medições em simultâneo e rejeita todas as cápsulas vazias ou que apresentem massas superiores ou inferiores aos valores limite. Uma imagem desta balança está presente na Figura 7, em Anexo.

2.2. Pontos fracos (*Weaknesses*)

2.2.1. Estagiária única de MICF da FFUC

Durante as primeiras semanas, o facto de ser a única estagiária proveniente da Universidade de Coimbra fez com que me sentisse por vezes muito deslocada da minha zona de conforto. Para além disso, a ausência de alguém para partilhar as minhas perspetivas, pontos de vista e discutir experiências fez com que me sentisse mais isolada. A presença de um estagiário adicional poderia ser bastante enriquecedora, na medida em que, a comparação pode ser uma forma de avaliar o progresso individual e de troca de conhecimentos e experiências.

2.2.2. Duração do estágio

O Estágio Curricular na Unidade de FAB da Generis® teve a duração de três meses. A aprendizagem e o tempo que requer, para alguém que nunca tenha contactado com o ambiente industrial é longa. Este facto despertou algum receio de, com o tempo limitado que tinha, não conseguir absorver todas as particularidades inerentes à unidade de FAB e, em última instância, as da indústria em si. Foi somente durante o período final do estágio que me senti em sintonia e com capacidade para acompanhar as atividades da unidade fabril, visto que a curva de aprendizagem é muito lenta devido à complexidade do processo.

2.2.3. Estágio observacional

O facto de este ter sido um estágio meramente observacional, contribuiu para um abrandamento da minha aprendizagem, visto que estava limitada à observação das atividades desempenhadas por outros profissionais. Tal situação foi frustrante para mim, visto que esta dependência incitou a sensação de que não estava a demonstrar as minhas capacidades nem a contribuir de forma positiva para o funcionamento da empresa. Contrariei este ponto fraco ao longo do estágio, na medida em que tentei auxiliar os operadores e participar o máximo possível em todas as atividades do FAB.

2.3. Oportunidades (*Opportunities*)

2.3.1. Crescimento do mercado de Genéricos

Tem-se verificado, ao longo dos últimos anos, um crescimento tendencial do mercado de medicamentos genéricos. Isto acontece devido à perda de exclusividade de mercado dos medicamentos originais e ao aumento dos custos em saúde. Este aumento na procura tem vindo a estimular indústrias farmacêuticas cuja especialidade seja a produção de medicamentos

genéricos. Os governos e autoridades regulamentares continuam cada vez mais a incentivar o uso destes medicamentos, potenciando assim o crescimento deste setor (5). O Estágio Curricular na Generis® permitiu-me ganhar experiência neste segmento particular da indústria - uma mais-valia visto que o mesmo se revela em crescimento (4).

2.3.2. Multidisciplinarietà

No departamento do FAB, a equipa é muito diversificada, com colaboradores provenientes de *backgrounds* muito diferentes. Com uma equipa tão heterogénea, é muito útil para um estagiário estar exposto a todos os processos do FAB através das diferentes perspetivas de cada colaborador. Como estudante de Ciências Farmacêuticas, foi interessante observar as diferenças entre a minha ótica e a de colegas provenientes de outros cursos superiores. A multidisciplinarietà de uma equipa também permite uma abordagem mais completa aos problemas que podem surgir dentro de qualquer contexto. Isto torna-se ainda mais vantajoso quando o contexto se trata de uma Indústria Farmacêutica, um setor que por si só exige um ambiente essencialmente multidisciplinar.

2.3.3. A perspetiva do farmacêutico

Este estágio contribuiu também para solidificar a minha opinião acerca da importância da presença de um farmacêutico em toda e qualquer atividade que envolva medicamentos. O fabrico do medicamento é um conjunto de processos complexos que, apesar de terem um controlo muito apertado, são suscetíveis ao erro humano. Num momento final, os medicamentos fabricados são analisados pelo departamento de Controlo de Qualidade e seguem para a Embalagem e, após a libertação do lote, o último passo será o seu consumo pelo doente. O farmacêutico, para além de aportar o *know-how* para as tecnologias do fabrico e cumprimento das Boas Práticas de Fabrico (BPF), tem em mente o doente e a sua segurança. A sua visão está enquadrada para assegurar a rentabilidade e otimização de todos os processos e, simultaneamente garantir o máximo grau de qualidade do produto de forma a contribuir para a preservação da saúde pública.

2.4. Ameaças (*Threats*)

2.4.1. Ambiente altamente regulamentado

A indústria farmacêutica é um setor regido por orientações estritas que são alvo de frequentes atualizações. Estas orientações referem-se às exigências de qualidade, de segurança e podem afetar profundamente as práticas de fabrico e o seu cumprimento exige

adaptabilidade de toda a equipa. Para avaliar a conformidade dos processos com as BPF são realizadas auditorias periodicamente e a Autoridade Nacional do Medicamento e dos Produtos de Saúde I.P., (INFARMED), pode também executar inspeções. Inconformidades resultam em consequências, e em último caso, o encerramento da unidade de FAB. Por esse motivo, há uma grande pressão para o cumprimento de todas as normas que é, naturalmente, sentida pelos colaboradores e pelos estagiários.

O facto de ter sido o meu primeiro contacto com este ambiente, a somar com todas as informações que tinha a reter durante o período inicial, tornou o período de habituação exaustivo. Para além disso, a possibilidade de causar desvios nos padrões do controlo de qualidade, nos controlos microbiológicos ou de reduzir a produtividade dos operadores, que tinham de dedicar do seu tempo a lecionar-me, incitou, inicialmente, hesitação em mim.

2.4.2. Escassez de recursos humanos

Durante o período do meu Estágio Curricular, o número de colaboradores do FAB era insuficiente. Isto poderá transtornar a experiência de um estagiário, visto que a carga imposta aos trabalhadores presentes pode não permitir que disponham confortavelmente do seu tempo para explicar as suas atividades. Com um menor número de pessoal para cumprir as mesmas tarefas, pode aumentar também a carga de stress dos colaboradores, que se reflete na experiência de quem os acompanha e com eles aprende. Apesar disto, os colaboradores que acompanhei mostraram-se sempre preocupados e proativos em garantir que eu estava esclarecida relativamente ao que me explicavam.

2.4.3. Segurança individual

O contacto tão próximo com o medicamento aporta alguns riscos à segurança, quer do estagiário, quer dos operadores. Na verdade, o medicamento é uma substância potencialmente tóxica e, como teorizou Paracelso, o que o distingue de um veneno é unicamente a dose. Durante a produção de lotes de grande dimensão, o operador e o estagiário poderão estar expostos a quantidades relevantes de princípios ativos, incluindo antibióticos e psicotrópicos. Por isso, há que seguir minuciosamente a gestão de risco, as medidas implementadas para a sua diminuição, como o uso adequado dos equipamentos de proteção individual, e a comunicação do mesmo. Só assim se pode prevenir a absorção por inalação de grandes quantidades de medicamentos, contaminação dos vestuários, contacto com os olhos, entre outros.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A indústria farmacêutica é uma área polivalente, e cada empresa conta com a colaboração criteriosa dos diversos departamentos para aumentar a qualidade das metodologias e diminuir a probabilidade de erros. O FAB é um departamento que permite um contacto com a evolução dos produtos até culminarem em produto acabado e com as técnicas que se usam para garantir a segurança, qualidade e eficácia do medicamento.

Pude constatar a adequação das matérias lecionadas durante o meu percurso no MICE, e o seu contributo para a minha *performance* neste estágio. Foi um privilégio poder conhecer os processos associados ao fabrico dos medicamentos na Generis®. Resta-me agradecer a esta empresa e todos os seus colaboradores, em especial à equipa do FAB por todo o conhecimento transmitido. Deixo um agradecimento especial à Engenheira Sónia Oliveira, pela disponibilidade, simpatia, valores transmitidos, e por me ter proporcionado esta experiência.

Considero-me, depois destes três meses de aprendizagem, mais apta a enfrentar os futuros desafios que me esperam.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) **Decreto-Lei nº 176/2006**, de 30 de Agosto. Diário da República n.º 167/2006, Série I de 2006-08-30. Ministério da Saúde.
- (2) NUNES, Alexandre Morais *et al.* - The Portuguese generic medicines market: What's next? **Health Policy**. ISSN 01688510. 124:4 (2020) 397–403. doi: 10.1016/j.healthpol.2020.02.014.
- (3) Minas, R. - **Regulamentação Farmacêutica na garantia da qualidade, eficácia e segurança dos medicamentos genéricos**. Ordem dos Farmacêuticos: Colégio de Especialidade de Assuntos Regulamentares, 2014. [Acedido a 12 de maio de 2023]. Disponível em: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/editor2/Colegios_de_Especialidade/Titulo_Especialidade/Especialidade_AR/Especialistas_Anteriores/2014/2014_Renata_Minas.pdf
- (4) **Mercado de Mercado de Genéricos em Portugal**. Lisboa: Gabinete de Estudos e Projectos (GEP), 2014. [Acedido a 12 de maio de 2023]. Disponível em: https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Gen%C3%A9ricos_QuotaUnidade_Mar%C3%A7o14_v2.pdf/cda107ab-dd80-490f-8f1d-f26d1bdb5933
- (5) D YLST, Pieter *et al.* - Generic Medicines: Solutions for a Sustainable Drug Market? **Applied Health Economics and Health Policy**. ISSN 1175-5652. 11:5 (2013) 437–443. doi: 10.1007/s40258-013-0043-z.

5. ANEXO

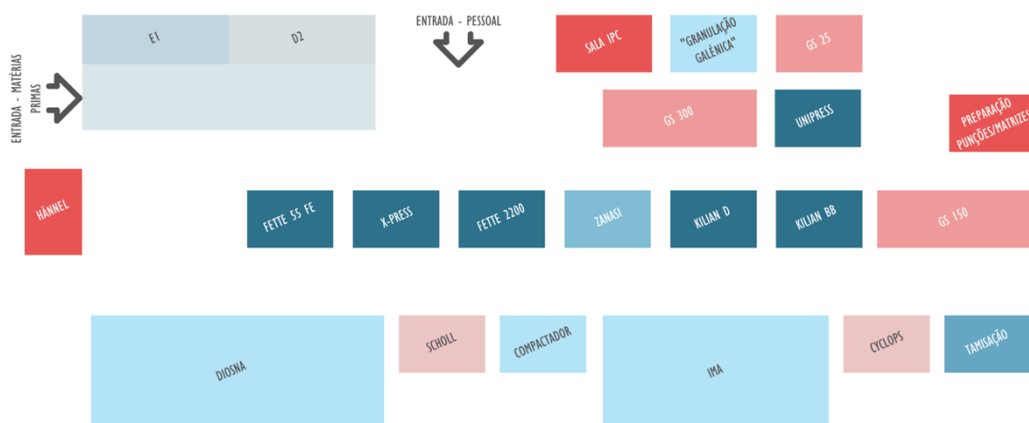


Figura 1 - A representação esquemática da unidade de fabrico.
(Fonte: Autoria Própria)

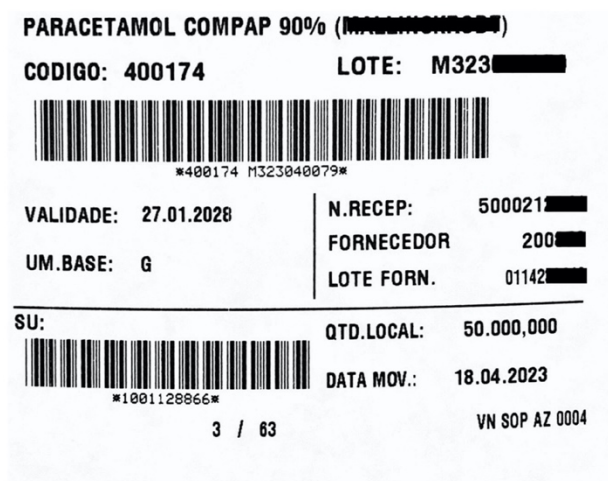


Figura 2 - A reprodução fotográfica da identificação de uma stock unit.
(Fonte: Autoria Própria)



Figura 3 - Representação do equipamento presente na sala 4005 – “Diosna”.
(Fonte: Imagem retirada do WebSite <https://www.diosna.de>.)

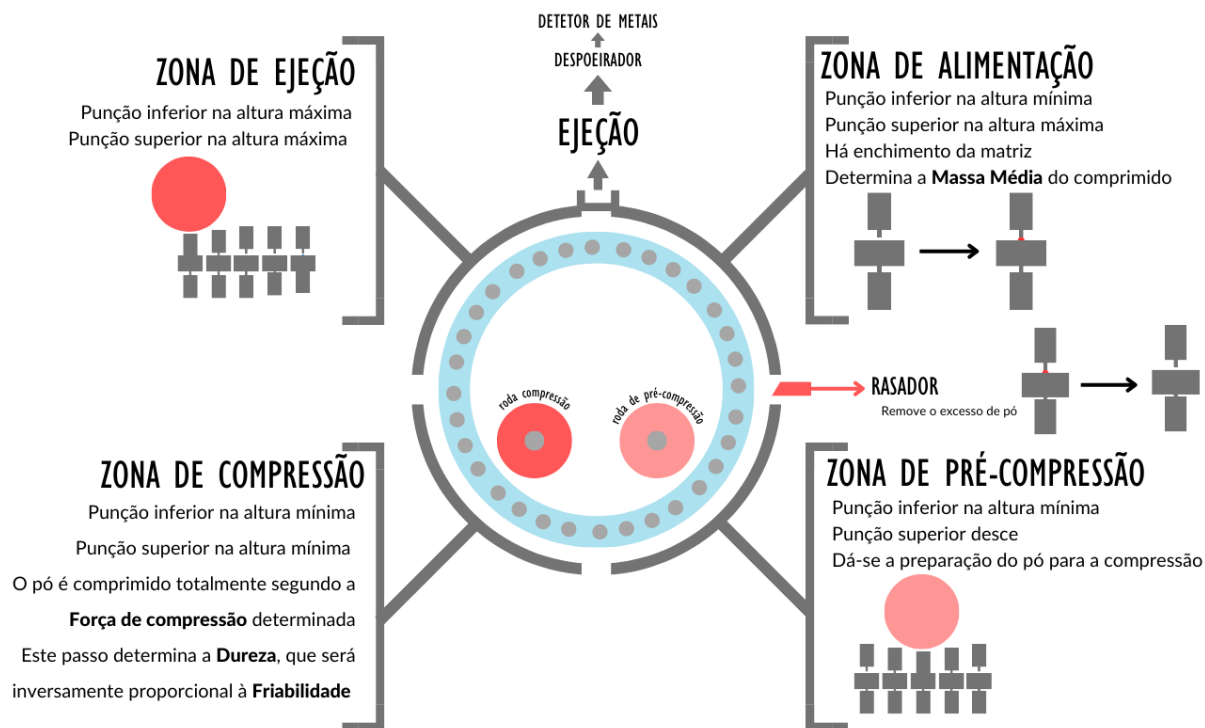


Figura 4 - Representação esquemática do processo de compressão.
(Fonte: Autoria Própria)

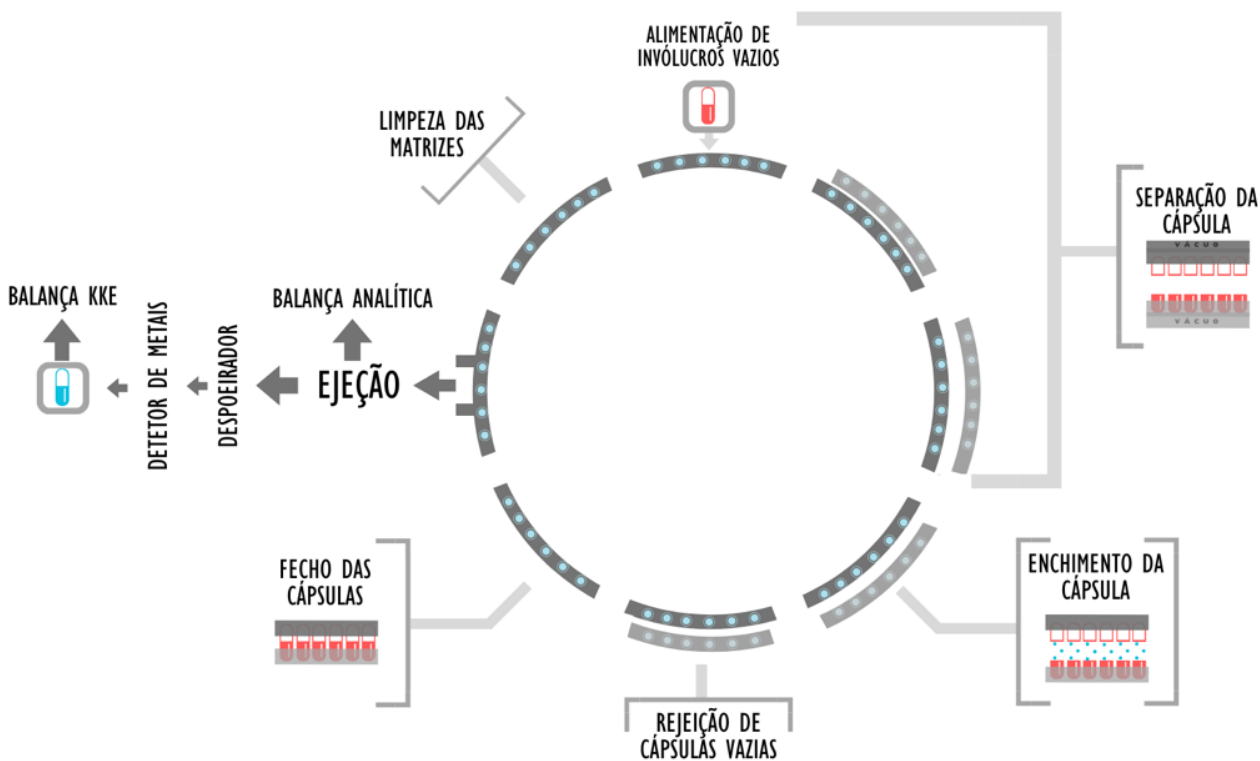


Figura 5 - Representação esquemática dos procedimentos na sala 702 – “Enchimento de Cápsulas”.
(Fonte: Autoria Própria)



Figura 6 - A máquina de compressão Fette FE 55®.
(Fonte: Imagem retirada do WebSite <https://www.fette-compacting-parts.com>)



Figura 7 - Balança de cápsulas KKE®
(Fonte: Imagem retirada do WebSite <https://www.syntegon.com/solutions/pharma/capsule-checkweighing/>)

CAPÍTULO III

MONOGRAFIA

***NEW PERSPECTIVES FOR THE DIAGNOSIS, PROGNOSIS, AND
TREATMENT OF PANCREATIC CANCER: THE ROLE OF LONG NON-
CODING RNAS***

Sob orientação da Professora Doutora Alexandrina Mendes

Abbreviations

ANRIL - Antisense RNA In The INK4 Locus
ATP – Adenosine Triphosphate
AUC - Area Under Curve
BMI-1 - B Lymphoma Mouse Moloney Leukemia Virus Insertion Region 1
BRCA - Breast Cancer Gene
CA19-9 - Carbohydrate Antigen 19-9
CDK - Cyclin Dependent Kinase
CDKN2A – Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A
CpG - Cytosine-phosphate Diester-guanine
CRISPR - Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
DNA - Deoxyribonucleic Acid
DNMT – DNA Methyltransferase
Ductal PC – Pancreatic Ductal Adenocarcinoma
EMT – Epithelial-Mesenchymal Transition
ERK - Extracellular Signal-Regulated Kinase
EZH2 - Enhancer Of Zeste 2 Polycomb Repressive Complex 2 Subunit
GAS5 - Growth Arrest-Specific 5
GAP - GTPase-Activating Protein
H19 – H19 Imprinted Maternally Expressed Transcript
HGP – Human Genome Project
HH - Hedgehog
HOX - Homeobox
HOTAIR - Homeobox Transcript Antisense RNA
HULC - Hepatocellular Carcinoma Up-Regulated Long Non-Coding RNA
IPMN - Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm
JNK - c-Jun N-terminal Kinase
KIF1B - Kinesin family member 1B
KRAS - Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog
LINC-PIT - Long Intergenic Non-protein Coding RNA, p53 Induced Transcript
LncRNA – Long Non-coding RNA
LSD1 - Lysine-specific Demethylase 1
MALAT1 - Metastasis Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1
MEG3 - Maternally Expressed Gene 3

miR – Micro RNA
mFOLFIRINOX - Modified FOLFIRINOX
mRNA - Messenger RNA
mTOR - Mammalian Target of Rapamycin
NAT - Natural Antisense Transcript
NcDNA – Non-coding DNA
NcRNA - Non-coding RNA
NUTF2P3 - Nuclear Transport Factor 2 Pseudogene 3
OS - Overall Survival
PCA3 - Prostate Cancer Antigen 3
PC – Pancreatic Cancer
PCG – Protein Coding Gene
PRC - Polycomb Repressive Complex
PTEN - Phosphatase and Tensin Homolog
PTENP1 - Phosphatase and Tensin Homolog Pseudogene 1
PVT1 - Plasmacytoma Variant Translocation 1 Oncogene
RAS - Rat Sarcoma Virus
RBFOX2 - RNA Binding Protein Fox-1 Homolog 2
ROC - Receiver Operating Characteristic
RT-PCR - Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
RT-qPCR - Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
RNAP - RNA Polymerase
siRNAs - Small Interfering RNA
SMAD4 - SMAD Family Member 4
SNHG16 - Small Nucleolar RNA Host Gene 16
TGF- β - Transforming Growth Factor β
TP53 - Tumor Protein p53 Gene

Resumo

O cancro do pâncreas (PC) permanece um grave problema de saúde sem solução, com uma das maiores taxas de mortalidade em comparação com outros tipos de cancro. O diagnóstico tardio e em fases avançadas da doença reduz a margem temporal para um tratamento com objetivos curativos e as alternativas terapêuticas continuam a ser insuficientes e com resultados insatisfatórios. Os ácidos ribonucleicos longos não codificantes (lncRNAs) estão a ser apontados como importantes reguladores na patogénese e evolução de muitas doenças, uma das quais o PC.

Vários lncRNAs têm diferentes níveis de expressão em células e tecidos de PC comparativamente com os seus homólogos não doentes. As investigações recolhidas sugerem que os lncRNAs são reguladores e desempenham um papel importante nas mutações determinantes e nas vias de sinalização alteradas no PC, interferindo assim na tumorigénese e na progressão desta doença.

Há cada vez mais evidências que sugerem que os lncRNAs são biomarcadores promissores para o diagnóstico do PC, exibindo um elevado poder discriminatório na distinção entre pacientes com PC e indivíduos não doentes. Quanto ao prognóstico do PC, vários lncRNAs foram considerados marcadores independentes da sobrevivência global (OS) e foram altamente relacionados com as características clínicas e patológicas do PC.

Por último, a manipulação dos níveis de certos lncRNAs teve consequências notórias na proliferação, migração, invasão, resistência ao tratamento e crescimento de tumores pancreático em vários estudos *in vitro* e *in vivo*.

Sendo este um campo emergente, há muito ainda por esclarecer sobre a importância dos lncRNAs no desenvolvimento e progressão do PC. Este trabalho inclui e revê artigos recentes que identificaram os lncRNAs como biomarcadores vantajosos para o diagnóstico e prognóstico do PC, bem como agentes e alvos terapêuticos com potencial significativo para, pelo menos, ultrapassar algumas das limitações das terapias atuais.

Palavras-Chave: cancro do pâncreas, gestão do cancro, ARNs longos não codificantes, biomarcadores, agentes terapêuticos, adjuvantes terapêuticos.

Abstract

Pancreatic cancer (PC) remains an unsolved urgent healthcare problem with one of the highest mortality rates among other cancers. The tardy diagnosis at advanced stages of the disease narrows the timeframe for treatment with curative intents, and the therapeutic alternatives remain insufficient and provide dissatisfying results. Long non-coding ribonucleic acids (lncRNAs) are being pointed out as important regulators in the pathogenesis and evolution of many diseases, one of which is PC.

Different lncRNAs have differential expression levels in PC cells and tissues in comparison to their non-diseased counterparts. The investigations gathered imply that lncRNAs are regulators and play an important role in driver mutations and altered signaling pathways in PC, therefore interfering with the tumorigenesis and progression of this disease.

Increasing evidence further suggests that lncRNAs are promising biomarkers for the diagnosis of PC, exhibiting high discriminatory power in distinguishing PC patients from non-diseased individuals. As for the prognosis of PC, various lncRNAs were found to be independent markers of overall survival (OS) and were strongly related to the clinical and pathological characteristics of PC.

Lastly, the manipulation of the levels of certain lncRNAs had notorious consequences in PC cell proliferation, migration, invasion, treatment resistance, and pancreatic tumor growth in several *in vitro* and *in vivo* studies.

As this is an emerging field, there is still much to unveil about the importance of lncRNAs in the development and progression of PC. This work comprises and reviews recent articles that identified lncRNAs as advantageous biomarkers for the diagnosis and prognosis of PC, as well as therapeutic agents and targets with significant potential to overcome, at least, some of the limitations of current therapies.

Keywords: pancreatic cancer, cancer management, long non-coding RNAs, biomarkers, therapeutic agents, therapeutic adjuvants.

INTRODUCTION

Cancer is one of the most challenging healthcare problems thus far, and the scientific community has yet to find a cure. In 2019, this condition was the second leading cause of death in Europe killing 1.2 million people, being only surpassed by cardiovascular diseases (1). Through the last decade, many improvements have been made in terms of treatment and diagnosis, expanding the survival rates and declining the mortality of those diagnosed (2). Nonetheless, there is still much to unveil about the pathogenesis of this malady and, ultimately, to find its cure.

Of all cancers, pancreatic cancer (PC) has one of the lowest 5-year relative survival rates (2), and it is estimated that by 2040 it will be the second leading cause of cancer death in both male and female individuals (3). The unspecific symptomatology or lack thereof, leads to a silent evolution of the disease and consequently a tardy diagnosis (4). Because of this, the time interval between the diagnosis and the beginning of therapy seems to have no positive effect on the prognosis of the disease (5).

There is an ongoing search for biomarkers that could allow for an early diagnosis, as well as biomarkers carrying prognostic value. Beyond that, there is still an urgent necessity for drugs that improve the outcomes of cancer treatments. This work aims to review the current knowledge on long non-coding RNAs (lncRNAs) and how they associate with PC, identifying their potential therapeutic role as well as their limitations and strategies to overcome them.

I. Cancer and non-coding RNAs

I.1. Cancer

There are many types of cancer, each exhibiting distinct molecular and cellular characteristics, clinical manifestations, and therapeutic requirements and responses (6). Although very heterogeneous in nature, there is a shared characteristic which is the uncontrolled development of aberrant cells able to avoid apoptotic signaling and disseminate to distant body parts (7).

It is accepted that cancer develops due to genetic alterations, however this condition is not sufficient for the development of a malignant tumor (8). Thus, twenty-three years ago, Hanahan and Weinberg suggested six hallmarks that represent cumulatively necessary conditions for tumorigenesis and the subsequent evolution of malignant cells. These include the perpetuation of proliferative signals, the avoidance of anti-growth signaling, the evasion of apoptosis, unlimited replicative capability, the ability to instigate angiogenesis, and in later stages the potential to invade other tissues and metastasize (9). Eleven years later, Hanahan and Weinberg proposed two enabling characteristics for the acquisition of cancer hallmarks,

which are genome instability and the presence of a pro-inflammatory state (10). In the same publication, the authors presented two emerging hallmarks, one being the evasion of the organism's immune defense, which is necessary for the survival of these malignant cells. Cancer cells evade the immune system through multiple mechanisms. They suppress immune responses by stimulating the expression of proteins that inhibit immune defense cells, such as immune checkpoint proteins and their receptors (11-13) while promoting an immunosuppressive tumor microenvironment (12,13). In addition, tumor antigen expression is downregulated, which hinders the recognition of target antigens on tumor cells by cytotoxic T lymphocytes (12,13). These and numerous additional strategies allow cancer cells to evade immune surveillance and promote their persistence and proliferation.

The other emerging hallmark emphasized the alterations in energy metabolism observed in cancer cells (10). Many cancer cells resort to aerobic glycolysis to obtain usable energy in the form of adenosine triphosphate (ATP) regardless of oxygen presence, compensating for the lack of efficiency of this route by increasing the amount of glucose imported into the cytosol. This was named the Warburg effect (14). Glycolysis is the process by which a single glucose molecule is converted into two molecules of pyruvate, releasing two ATP molecules. In anaerobic conditions, pyruvate can then be transformed into lactate. In the presence of oxygen, healthy cells resort to cellular respiration to produce energy, fully oxidating glucose into carbon dioxide in the mitochondria. The final step is oxidative phosphorylation, which generates thirty-six to thirty-eight ATP molecules per glucose molecule (15). Cancer cells, however, resort to aerobic glycolysis because although less efficient, there is a higher rate in the production of ATP and intermediate metabolites that can be redirected towards biosynthetic pathways - both useful for the rapid rates of growth observed in these cells (16).

1.2. Non-coding RNAs

The Human Genome Project (HGP), completed in 2003, revealed that out of all the human Deoxyribonucleic acid (DNA), comprised of 2,85 billion nucleotides, only 20000 to 25000 genes are protein-coding genes (17). Given that only 1-2% of the genome makes up for protein-coding genes, this implies that the remaining 99-98% of all DNA is non-coding DNA (ncDNA) (18). Though an exhaustive and methodical project, the HGP highlighted the necessity of further investigating the functions of ncDNA (19).

For many years, ncDNA was considered "junk DNA" and deemed not to have any functional value (20). Since then, evidence has emerged suggesting that non-coding regions are also accountable for the regulation of processes regarding the development of complex

organisms (21). From the transcription of these regions, non-coding RNA (ncRNA) is obtained.

Suspicions that ncRNA was more than a simple messenger peaked in the 1990s and were confirmed in 1993 with the discovery of the first micro-RNA (miR) in the nematode *Caenorhabditis elegans* by Victor Ambros and his partners (19). They uncovered that the *LIN-4* gene is transcribed into two small ncRNAs that pair with the *LIN-14* messenger RNA (mRNA), consequently regulating the expression of the protein LIN-14. This regulation was entitled “post-transcriptional gene silencing” (19,20).

NcRNAs, unlike mRNAs, typically have no open reading frames, and the 5' cap and 3' poly-A tail, both necessary for protein synthesis, can be absent – although in the minority of cases (18,19,22). Nowadays ncRNAs can be classified by their size: small ncRNAs, with less than 200 nucleotides which include miRs and small nucleolar RNAs, and lncRNAs, with over 200 nucleotides (20).

lncRNAs are transcribed from non-coding regions of the DNA in nearly every locus of the genome (18) and they are widely transcribed across mammalian genomes (23). These lncRNAs can be transcribed by RNA polymerase (RNAP) II, however, some harbor structures that can be transcribed by RNAP III (18,19,22). The transcription of lncRNAs can arise from sequences that contain annotations of Protein Coding Genes (PCGs), originating intragenic lncRNAs (19,24). As opposed to what happens in mRNA transcription, lncRNA transcription can occur in differing orientations. Sense lncRNAs are transcribed from the DNA strand of the coding transcript, overlapping exonic regions. The transcription of antisense lncRNAs involves the complementary DNA strand of the coding transcript. In this case, lncRNA overlaps with the exons in an antisense manner (18,23). Intragenic lncRNAs can be further classified as bidirectional when transcribed in the opposite direction, on the opposite strand of a PCG whilst not overlapping or partially overlapping the 5' region of the paired PCG (19). Intronic lncRNAs are another type of lncRNA, transcribed from the introns of the PCG itself (19,24). These molecules can also be transcribed from intergenic regions that lack coding genes (18,23,24), and they are referred to as long intergenic ncRNAs (lincRNAs) (24). Additionally, lncRNA can emerge from regulatory regions, such as enhancers, resulting in enhancer lncRNA, or promoters (18,24). Many other classifications of lncRNAs are being created as more discoveries are made but, within the scope of this work, this topic will not be addressed further.

After transcription, lncRNAs can undergo processing, much like mRNA does (18). It has been reported that lncRNAs have higher rates of alternative splicing than those of mRNA,

which in consequence increases the number of their isoforms (25). Although their name suggests that they do not undergo translation, emerging evidence suggests that lncRNAs can be translated into small peptides due to the presence of short open reading frames which are then engaged by ribosomes (18,19,26). Although they were first thought to be dysfunctional (19), a growing amount of evidence points to the fact that these peptides might carry important functional value (27,28).

Throughout the last decade, the discovery of many lncRNAs was propelled by technological advances in high-throughput sequencing (23). These advances, however, were not accompanied by the complete elucidation of their functions. The categorization of lncRNAs by their absent protein-coding capability and their size seems rather scarce. However, the lack of understanding of their functions calls for such an unspecific categorization (23,29).

lncRNAs can be found in either the nucleus or the cytosol (20,25,29,30), and depending on their subcellular location they are believed to have differing functions (22,25). lncRNAs are, however, more abundant in the nucleus (22,25) despite being spliced and polyadenylated – both requirements for nuclear transport in mRNA (25). These molecules are thought to regulate a vast array of biological processes in the organism, which in the scope of this review will be divided into pre-transcriptional, transcriptional, and post-transcriptional regulations. lncRNAs can exert their functions in either a *cis*- or *trans*-acting manner, depending on whether they regulate genes located nearby or distant from their site of transcription, respectively.

In the pre-transcriptional domain, lncRNAs can modulate chromatin modifications (24,25). They exert these functions by modifying histones, contributing to histone methylation or acetylation, for example, or by removing functional groups. An illustrative example lies in the Polycomb repressive complex (PRC) 2 which many studies point to being recruited by various lncRNAs to cause methylation of histone tails (22,26,31). lncRNAs can either function as enzyme recruiters, binding and guiding them to the histone to be modified, or act as molecular scaffolds for enzymes and enzyme complexes that can induce different modifications simultaneously while coordinating them (24,26). Histone modifications eventually modify chromatin structure, impairing gene transcription (26,31). lncRNAs can also modify chromatin structure by neutralizing the positive charges of histone tails with their inherently negative charge (32) and this induced decompaction of chromatin makes DNA sequences more available to transcription. It is also thought that these molecules have the capacity to form hybrid structures with DNA, such as triplexes or R-loops, affecting the accessibility of

chromatin and, thus, influencing gene expression (22). LncRNAs are also involved in DNA methylation, which mainly occurs at Cytosine-phosphate diester-guanine (CpG) islands near the promoter region, and this can result in transcription inhibition (26).

At the transcriptional level, lncRNAs can regulate transcription in many ways. These molecules can interact with proteins, such as transcription factors or the initiation complex, influencing gene expression (24-26,31). They can also affect RNAP II activity through a variety of mechanisms (26,31) and, by binding directly to certain DNA sequences, they can block gene transcription (26).

The post-transcriptional modulations can include the processing of mRNA, namely splicing when lncRNAs interact with RNA-binding proteins and splicing factors (22,24,26,31). Not only do they influence mRNA editing and stability (25,26,31), lncRNAs can also lead to its degradation (22,26,31). Indirectly, lncRNAs with miR complementary sequences can affect post-transcriptional gene expression via miR sponging, inhibiting the binding of miRs to mRNA, which would result in its degradation (22,25). LncRNAs can regulate translation itself through various mechanisms (22,25,26,31). Post-translational modifications exerted by lncRNAs include, but are not limited to, sequestering proteins via binding, thereby altering their levels, (22,25), regulating their subcellular localization (26), and inducing protein modifications (25, 26). Figure I depicts some of the regulatory mechanisms of lncRNAs and the subcellular compartment where they occur.

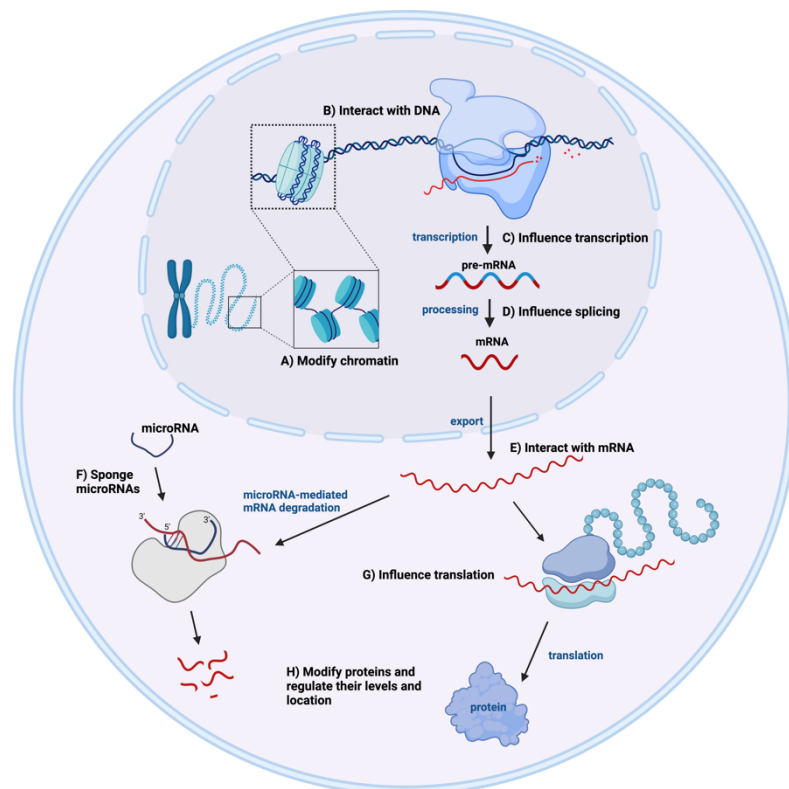


Figure I - The various mechanisms by which lncRNAs can exert their regulatory functions enumerated from A to H. Depicted with Biorrender.com.

1.3. Cancer and long non-coding RNAs

LncRNAs are now believed to have critical regulatory functions in a variety of diseases, one of which is cancer. Many lncRNAs are found to be dysregulated and can be associated with tumorigenesis (33-35), tumor development (33-35), metastasis and invasion (33-35), and treatment resistance (36-38). As to indicate the growth in the research on this field, a PubMed search was conducted using Boolean algorithms and the following terms: “(lncRNA OR long non-coding RNA) AND cancer”. The results are displayed in Figure 2, segregated by year up to 2022.

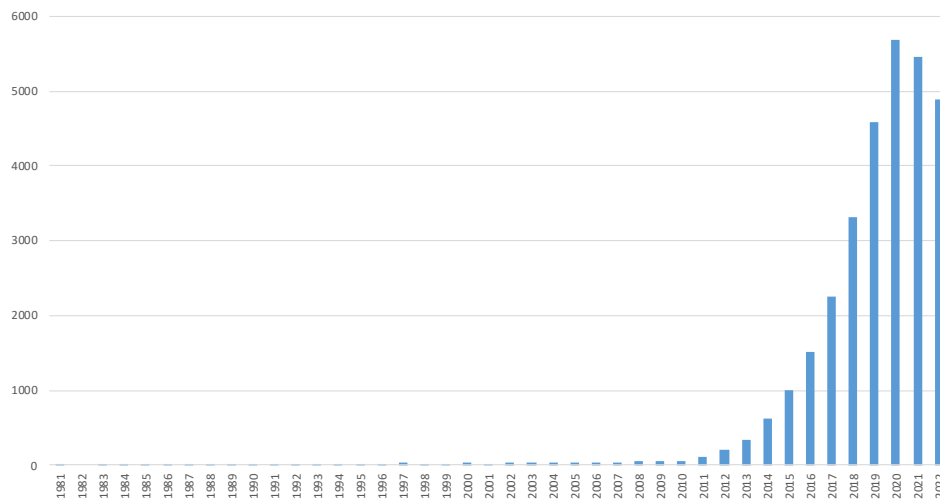


Figure 2 - Number of studies retrieved from PubMed using the search terms: “(lncRNA OR long non-coding RNA) AND cancer” from 1981 until 2022.

There is a growing interest in this field of research, illustrated by the exponential growth of published papers over the years. Investigations in this scope have unveiled important mechanisms related to carcinogenesis and treatment resistance, contributing to the identification of potential therapeutic targets. This enables the doorway to a new era of lncRNA-based therapies to treat and manage cancer.

There are several ways in which lncRNAs may exert their tumor regulatory role. These molecules can be divided into two categories: lncRNAs that have tumor-suppressing activity, and lncRNAs that contribute to the development of malignant processes.

Among these, the Homeobox (*HOX*) transcript antisense RNA (*HOTAIR*) is transcribed from the *HOXC* locus but is a *HOXD* *trans*-acting regulator. This lncRNA serves as a scaffold for at least two histone-modifying proteins: the histone methylase PRC2 and the lysine-specific demethylase I (LSDI). *HOTAIR* is a pre-transcriptional regulator, maintaining transcriptional repression of the *HOXD* locus by altering chromatin conformation (20,39). In several studies, *HOTAIR* was found to be upregulated in breast cancer, pancreatic tumors, colorectal cancer, and hepatocellular carcinoma, among others, and higher levels of this molecule are considered

a strong indicator of metastasis and mortality (40-43). It is considered, therefore, an onco-lncRNA. H19 Imprinted Maternally Expressed Transcript (*H19*) is another lncRNA that is found to be upregulated in different human tumors (44). One of the suggested mechanisms of action is its interference with DNA methyltransferases (DNMT), which directly methylate DNA. Wang *et al.* (45) conducted a study in which *H19* was found to be overexpressed in tamoxifen-resistant breast cancer patients. They also concluded that tamoxifen resistance could be increased by autophagy, which in turn was regulated by *H19* expression. They found that *H19* inhibits S-adenosylhomocysteine hydrolase, reducing DNMT₃N-mediated methylation in the promoter of the *Beclin1* gene. This leads to an increase in the transcription of *Beclin1* which increases autophagy, increasing tamoxifen resistance. In Laryngeal squamous cell carcinoma patients, *H19* is consistently overexpressed and is inversely correlated with their survival rates. It was found that *H19* decreases the expression of miR-148a-3p, but not the other way around. This miR was associated with an inhibition of laryngeal squamous cell carcinoma cell proliferation, migration, and invasion by reducing DNMT1 activity (46). Another oncogenic lncRNA, Prostate Cancer Antigen 3 (*PCA3*), has an established clinical value and was first discovered in the early 2000s being mapped to chromosome 9q21–22 (47-49). Because of its high specificity for prostate cancer, it can now be used in clinical practice as an additional biomarker which has the potential to reduce the number of unnecessary biopsies (49-51).

The lncRNA Metastasis-Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1 (*MALAT1*) is transcribed from chromosome 11q13 and is associated with a higher probability of metastasis and poorer survival outcomes in early-stage non-small cell lung cancer patients (52). However, this lncRNA is found to be upregulated in many other malignancies (24,53). *MALAT1* can have a regulatory role in alternative splicing (53). A 2018 article published by Gordon *et al.* (54) highlighted the role of *MALAT1* in coordinating the processing of the Kinesin family member 1B (*KIF1B*) gene pre-mRNA in epithelial ovarian cancer cell lines. The *KIF1B* gene can originate two different proteins, depending on the processing of its pre-mRNA: the full-length with apoptotic potential, *KIF1B* β , or the truncated protein *KIF1B* α . *MALAT1* was shown to suppress *KIF1B* β , the pro-apoptotic isoform. Additionally, with the knockdown of *MALAT1*, there was downregulation of the splicing factor RNA Binding Protein Fox-1 Homolog 2 (*RBFOX2*). The knockdown of *RBFOX2*, in turn, upregulated *KIF1B* β whilst inducing a small downregulation in *KIF1B* α . The authors concluded that *MALAT1* influences *KIF1B* alternative splicing via *RBFOX2* modulation, displaying a pro-tumorigenic role.

Besides the previously mentioned tumor-enabling lncRNAs, which are upregulated in malignant processes, there are also tumor suppressor lncRNAs. Maternally Expressed Gene 3

(*MEG3*), Growth Arrest-Specific 5 (*GAS5*), and Phosphatase and Tensin Homolog (*PTEN*) Pseudogene I (*PTENP1*) are three of these examples.

MEG3 is the most prevalent RNA isoform that arises from the transcription of the *MEG3* gene followed up by alternative splicing (55). *MEG3* has been identified as a regulator of the tumor protein p53 gene (*TP53*), which encodes for the p53 protein, known for its tumor-suppressing roles. This lncRNA was found to downregulate Murine Double Minute 2, an E3 ubiquitin ligase responsible for p53 ubiquitination and consequent degradation, thus stabilizing p53 expression (56). *MEG3* is found to be downregulated in various cancers, and *in vitro* studies point out that it could inhibit proliferation and metastasis (57,58).

GAS5 is a lncRNA that was the focus of a study conducted by Mourtada-Maarabouni *et al.* (59). The authors investigated the biological functions of *GAS5* in human T cell lines and demonstrated that overexpression of *GAS5* increased apoptosis and reduced the proportion of cells in the S phase of the cell cycle. A later study conducted by Pickard *et al.* (60) revealed that *GAS5* has a clear pro-apoptotic role in prostate cancer cell lines. The tumor-suppressor activity of *GAS5* has more recently been associated with its interaction with the Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) pathway, amongst others (61).

With a very interesting mechanism of action, *PTENP1* is a pseudogene derived from the *PTEN* gene. Yu *et al.* (62) suggested that the transcript of this pseudogene acts as a competing endogenous RNA for miR21, which modulates the mRNA expression of *PTEN*. This lncRNA acted as a sponge for miR21, preventing its binding to *PTEN* and ultimately, preventing *PTEN* suppression. Thus, downregulating *PTENP1* led to the suppression of *PTEN*, promoting clear-cell renal cell carcinoma progression.

Several clinical trials exploiting the involvement of lncRNAs in cancer and their potential as diagnostic, prognostic, and monitoring markers are currently ongoing. None, however, relating to PC.

2. Pancreatic cancer

2.1. Pancreatic precancer and cancer

The pancreas is a retroperitoneal gland, comprised of an exocrine and an endocrine compartment. Whilst the exocrine pancreas represents the majority of the organ's mass and is responsible for the production of digestive enzymes and bicarbonate, the endocrine compartment represents only 1-2% and produces hormones mainly involved in regulating glycemia (63-65).

Several types of pre-cancerous pancreatic lesions have been defined (66-69). Pancreatic Intraepithelial Neoplasias are localized in the ducts of the exocrine portion and are microscopic lesions that can be stratified in grades, from 1 to 3, depending on their level of cytological and architectural atypia (67-69). These lesions tend to evolve progressively from lower to higher grades, possibly culminating in cancer (67). Additionally, intraductal papillary mucinous neoplasms (IPMNs) are characterized by cystic enlargement of the duct epithelium caused by the proliferation of the papillary epithelium and mucin secretion. Lastly, mucinous cystic neoplasms, a less frequent type of lesion, are commonly located in the body and tail of this organ and have a positive prognostic with low risk of malignancy. The latter are found mostly in women and usually aren't connected to the pancreatic ductal system (67-69).

Different types of cancer can emerge in the pancreas, depending on what cells it occurs in. Cancer affecting the exocrine pancreas accounts for over 90% of the cases, with adenocarcinomas being the most common type (70). These adenocarcinomas are most frequently found in the pancreatic ductal cells and are called Pancreatic Ductal Adenocarcinomas (ductal PC). When PC emerges from hormone-producing pancreatic cells, the resulting condition is called Pancreatic Neuroendocrine Tumor (70).

In a recent study conducted by Permuth *et al.* (71), the circulatory levels of a panel of 28 lncRNAs were measured both in IPMN patients and healthy controls. Differences in lncRNA signatures between benign and malignant IPMN were also sought. While benign IPMNs have low or moderate grades of dysplasia, malignant IPMNs are defined by high grades of dysplasia and even invasive profiles. The investigators found one combination of two lncRNAs and another comprising eight lncRNAs that constitute molecular signatures with potential diagnostic value. The results are summarized in Table I.

Table I - Summary of the results of the investigation conducted by Permuth *et al.* 2017 (71)

LncRNA signatures	Expression in IPMN cases	Expression in malignant IPMN cases	Ability to discriminate IPMN patients from non-diseased controls	Ability to discriminate malignant from benign IPMN
GAS5	Downregulated	Not mentioned	Yes	No
SRA	Upregulated		Yes	
ADARB2-AS1	Not mentioned	Upregulated	No	Yes
CDKN2B-AS1			No	
ANRIL			No	
GLIS3-AS1			No	
LINC00472			No	
PANDA			No	
PVT1			No	
UCA1			No	

ADARB2-ASI, Adenosine Deaminase RNA Specific B2 (Inactive) Antisense RNA 1; ANRIL, Antisense RNA In The INK4 Locus; CDKN2B-ASI, Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2B Antisense RNA; GAS5, Growth Arrest-Specific 5; GLIS3-ASI, GLIS Family Zinc Finger 3 Antisense RNA 1; IPMN, Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm; LINC00472, Long Non-coding RNA 472; PANDA, P21-Associated Non-coding RNA DNA Damage-Activated; PVT1, Plasmacytoma Variant Translocation 1 Oncogene; SRA, Steroid Receptor RNA Activator; UCA1, Urothelial Cancer Associated 1.

This study points out that lncRNAs could potentially have a role in the pathogenesis of this precancerous lesion, and eventually serve as additional diagnostic markers. Besides having a role in PC tumorigenesis, as discussed in the following paragraphs, these molecules could also hold an important role in the development of the pre-malignant lesions that can culminate in cancer.

A rising number of scientific publications indicates that the levels of lncRNAs are modified in PC cases, and these alterations could even be the triggering event for the initiation of a malignant process (72).

2.2. Pancreatic cancer driver mutations

There are currently four known PC driver mutations which include mutations in the Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (*KRAS*), and mutations in the tumor suppressor genes SMAD family member 4 (*SMAD4*), *TP53*, and Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A (*CDKN2A*) (70).

2.2.1. LncRNAs and *KRAS* signaling

KRAS is an oncogene commonly found mutated in over 90% of PC cases (70) and pancreatic intraepithelial neoplasia and IPMN lesions, as well as mucinous cystic neoplasm lesions (67-69,73). Activation of rat sarcoma virus (RAS) proteins leads to the activation of the Extracellular Signal-Regulated Kinase (ERK) (73,74). ERK, amongst other functions, commands cell proliferation (74). Some lncRNAs are suspected to be intimately related to this pathway.

The lncRNA Nuclear Transport Factor 2 Pseudogene 3 001 (*NUTF2P3-001*), upregulated in PC patients and indicative of poorer prognosis, influences the *KRAS* gene by sponging miR-3923 which directly targets the *KRAS* mRNA. Thus, *NUTF2P3-001* promotes upregulation of the *KRAS* protein both *in vitro* and *in vivo* and is associated with PC cell proliferation and invasion (75). *KRAS* is also targeted by miR-217, which is sponged by another lncRNA – the before mentioned *MALAT1*. *MALAT1* was found to be overexpressed in ductal PC patients and its expression was inversely associated with survival. This lncRNA was associated with migration, invasion, and evasion of apoptosis *in vitro* and *in vivo*, through the stabilization of *KRAS* protein levels (76).

As mentioned before, rising evidence points to the fact that lncRNAs can have short open reading frames that can be translated into small peptides. LncRNA *LINC00673* encodes a functional peptide in ductal PC cell lines, entitled RASON. RASON is upregulated in ductal PC tissues and is mostly associated with a poor prognosis and *in vitro* and *in vivo* tumor growth via *KRAS* signaling. It is suspected that RASON competes with GTPase-Activating Proteins (GAPs) for *KRAS* binding sites, therefore hindering GAP-mediated *KRAS* inactivation (77).

2.2.2. LncRNAs and TGF- β /SMAD4 signaling

In the canonical Transforming Growth Factor β (TGF- β) pathway, TGF- β binds to the TGF- β type II receptor, which trans-activates the TGF- β type I receptor, responsible for SMAD2 and SMAD3 phosphorylation. Once phosphorylated, these proteins form a complex with SMAD4 that can be translocated to the nucleus. There, this complex is responsible for regulating gene transcription via the recruitment of transcription factors of cell-cycle arrest and apoptosis-related genes (73,78). Mutations in the tumor suppressor *SMAD4*, also considered ductal PC driver mutations (70,73), are predominantly found in pancreatic precancer lesions (69) and in over half of PC patients (73).

Yu *et al.* (79) found that PC tissues and cells showed overexpression of the Small Nucleolar RNA Host Gene 16 (*SNHG16*). Then, after developing gemcitabine-resistant PC cells, the investigators found the levels of *SNHG16* to be significantly higher in these cells compared to their parental counterparts. Upregulating this lncRNA also led to treatment resistance and treatment sensitivity was enhanced when silencing it. Finally, it was concluded that *SNHG16* promoted gemcitabine resistance by downregulating *SMAD4* via Enhancer of Zeste 2 Polycomb Repressive Complex 2 Subunit (EZH2) binding to its promoter.

In the later stages of tumor progression, there is a switch on the TGF- β signaling pathway, after which it is highly associated with Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) in neoplastic cells in a *SMAD4*-dependent manner (78). A mesenchymal phenotype is essential for cell migration, making EMT crucial for the initiation of the metastasis process which would otherwise be hampered by epithelial cell's strong cell-to-cell adhesion (73).

The lncRNA Plasmacytoma Variant Translocation 1 Oncogene (*PVT1*) was found to be significantly overexpressed in PC tissues in comparison to their normal adjacent counterparts. The viability, migratory, and invasion capacity of PC cells could be promoted by *PVT1* and this lncRNA also promoted adhesion of tumor cells to the extracellular matrix. Additionally, *PVT1* overexpression was also associated with EMT via the TGF- β /SMAD pathway, and its knockdown led to an increase in *SMAD4* levels (80).

2.2.3. LncRNAs and TP53

TP53 is a tumor suppressor gene, an important mediator of DNA damage control, and a ductal PC driver gene (70). Mutations in *TP53* are found in many ductal PC cases, as well as its precursor lesions (68-70). Additionally, a rising amount of evidence suggests lncRNAs are involved in PC progression via p53 modulation (81-83).

MEG3, for instance, was found to be responsible for fenofibrate-induced PC cell death via activation of p53 (81). PC progression was promoted by a positive feedback loop in which *MALAT1* was found to be integrated. Its expression was increased by Importin 7, a nuclear transport protein that reduces the levels of p53. Meanwhile, Importin 7 is suspected to be a downstream target of miR-129-5p, which in turn is downregulated by *MALAT1*. Thus, this lncRNA was connected to a PC enabling a feedback loop where p53 expression and its expression were negatively correlated, culminating in *in vitro* and *in vivo* PC proliferation (82). Another lncRNA, *CF129145.1*, was found to be downregulated in PC tissues and inhibited PC cell proliferation and invasion via transcriptional repression of forkhead box C2. This regulation depended on *CF129145.1*-mediated ubiquitination and degradation of mutant p53 (83).

2.2.4. LncRNAs and CDKN2A

Aberrant modulation of Cyclin-Dependent Kinase (CDK)-cyclin complexes, such as dysfunction in CDK inhibitors, promotes the progression of the cell cycle and inactivation of the different cell cycle checkpoints (84). Mutations in one of these inhibitors, the previously mentioned *CDKN2A*, are considered PC driver mutations (70) and they can be found in many pancreatic intraepithelial neoplasia and IPMN cases (68,69).

The lncRNA Antisense RNA In The INK4 Locus (*ANRIL*) is transcribed in an antisense manner from the *INK4b/ARF/INK4a* locus and is known for pre-transcriptionally silencing the expression of the *CDKN2A* gene, culminating in decreased levels of the p16INK4a tumor-suppressor protein (20,23). *ANRIL* exerts its functions in *cis* by recruiting PRC 1 and PRC 2 and is upregulated in various malignancies (20,23).

In osteosarcoma cells, the expression of *CDKN2A* was downregulated by *HOTAIR* which caused DNMT1-mediated DNA methylation at the promoter region of this tumor-suppressor gene. *HOTAIR* knockdown led to increased sensitivity of osteosarcoma cells to treatment with a DNMT1 inhibitor (85).

In vitro, in hepatocellular carcinoma cells, downregulation of *HOTAIR* reduced cell viability and induced cell cycle arrest at the G1-phase. *In vivo*, the knockdown of this lncRNA

was responsible for tumorigenicity. It is thought *HOTAIR* exerted its functions by negatively regulating miR-218 expression, which targets the oncogene B lymphoma mouse Moloney leukemia virus insertion region I (*BMI-1*). As a downstream target of this pathway, p16INK4a signaling was inactivated by *HOTAIR* (86).

A comprehensive review, at the current state of research, retrieved no results to assert the direct impact of lncRNAs on the *CDKN2A* gene or p16INK4a levels specifically in PC. The results available for other types of cancer, however, further highlight the need for additional investigations concerning this topic.

In PC, many additional molecular pathways can be affected by genetic alterations and lncRNAs can contribute to this matter. In an elegant genomic assessment of 24 ductal PC cases, Jones *et al.* (87) congregated 12 core molecular pathways frequently altered in this malignancy. These signaling pathways were, in no particular order, KRAS, other small GTPase-dependent signaling, Wnt/Notch, Hedgehog (HH), TGF- β , Integrin, c-Jun N-terminal Kinase (JNK), and processes such as apoptosis, homophilic cell adhesion, regulation of invasion, DNA damage control, and regulation of the cell cycle G1/S transition. lncRNAs might contribute to the alteration of the pathway at the pre-transcriptional level, or downstream, impacting the pathway's effectors or mediators. Alternatively, altered signaling pathways can affect the expression of certain lncRNAs, propagating the malignant phenotype. Different investigations point to several lncRNAs being deregulated in PC whilst affecting most of the before-mentioned pathways and cellular processes (75-77,79-83,88-93).

3. LncRNAs and pancreatic cancer

3.1. Diagnosis

Emerging evidence points to deregulated lncRNA levels being of use to diagnose PC. As discussed before, many patients with PC are beyond the stage of resectable surgery at the time of the diagnosis, leading to worse outcomes. Due to the inaccessible location of the pancreas, the diagnostic methods used are mainly imaging tests, some of which include invasive techniques (94). Carbohydrate antigen 19-9 (CA19-9) and carcinoembryonic antigen are some of the few serum biomarkers used to aid the diagnosis and follow-up of pancreatic exocrine tumors (94). However, both present dissatisfying performance in terms of accuracy and specificity, which is a common characteristic in all the known markers of this disease (94). When using CA19-9 in the diagnosis of PC, false positives can emerge in the presence of other diseases, such as pancreatitis, diabetes mellitus, cholestasis, cirrhosis, and other cancers, and false negatives are also common in Lewis antigen-negative patients (95). This emphasizes the need to validate CA19-9-derived conclusions with additional techniques. Consequently,

although CA19-9 is the only FDA-approved biomarker for this goal, there is an ongoing strive to find novel and improved biomarkers (96).

LncRNAs are promising biomarkers for cancer, given that they are stable (97), can be detected in peripheral body fluids (97,98) and exhibit tissue specificity (99).

The diagnostic value of a biomarker can be measured through Receiver Operating Characteristic (ROC) curves. They conglomerate the sensitivity and specificity results for different cutoff values and the closer the Area Under Curve (AUC) is to 1.00, the better the discriminatory power (100).

Investigations to assess the diagnostic value of lncRNAs in PC share similarities in terms of protocol and some are resumed in Table 2. Firstly, candidate lncRNAs are selected based on deregulations in their levels in PC cases versus the normal controls. Secondly, they are sampled and their diagnostic value is assessed by determining the sensitivity, specificity, and the ROC curve which allows the determination of the AUC. In an investigation conducted by Xie *et al.* (101), described in Table 2, to further prove the correlation of lncRNAs with PC, the levels of *HOTAIR* and *PVT1* were analyzed in pre-operative and post-operative saliva samples and the surgical treatment was shown to decrease the levels of both lncRNAs.

Potential lncRNAs can be selected by visiting literature and different databases to identify commonly deregulated lncRNAs in PC. They can also be selected by extracting and isolating RNA from PC specimens, reverse transcribing it, and submitting it to microarray analysis. Then, differentially expressed lncRNAs can be isolated and quantified by Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). *HOTAIR* and *PVT1* were selected as potential biomarkers, among three other lncRNAs by Xie *et al.* (101), because of their well-documented deregulation in PC. Similarly, Long Intergenic Non-protein Coding RNA, p53 Induced Transcript (*LINC-PIT*) was selected as a candidate biomarker by Li *et al.* (102) due to previous investigations relating this lncRNA to PC. On the other hand, the lncRNA Hepatocellular Carcinoma Up-Regulated Long Non-Coding RNA (*HULC*) was selected by Ou *et al.* (103) through a literature analysis which revealed a documented upregulation in gastrointestinal tumors and PC tissues.

There are different approaches to using lncRNAs as diagnostic markers. Some include multi-panel biomarkers, which are proven to improve sensitivity and specificity when compared to single biomarkers (96). In a discovery cohort, Zhou *et al.* (104) identified seven ductal PC-deregulated lncRNAs with competing endogenous RNA activity in a competing endogenous RNA regulatory network. The investigators used machine-learning technology to develop an algorithm that created a signature of these seven lncRNAs, named LncRisk-7.

LncRisk-7 was then validated in two additional independent cohorts, the Pei and Badea cohorts, in which these 7 lncRNAs combined robustly discriminated ductal PC and nonmalignant samples. Thus, machine-learning technology was useful in discovering promising biomarkers for the diagnosis of ductal PC.

An investigation led by Li *et al.* (105) also used machine-learning technology to develop a predictive diagnostic model for ductal PC, named 5hLDS. This model was based on cell-free lncRNAs whose 5-Hydroxymethylcytosine epigenetic mark profiles were different in individuals with ductal PC when compared to the non-diseased controls. Six lncRNAs with ductal PC-specific epigenetic changes were discovered. 5hLDS, the algorithm that used these six altered lncRNAs combined as features, achieved promising results in distinguishing the non-diseased control group from the ductal PC group in two different cohorts.

Few studies have been conducted, however, and the existing ones have been conducted in a relatively small number of individuals. Given the potential of lncRNAs as biomarkers for the diagnosis of PC, more and larger studies need to be developed in this field of research.

The results of all the investigations mentioned before are summarized in Table 2.

Table 2 - Summary of studies analyzing promising lncRNAs and their potential in the diagnosis of PC.

LncRNA	Sample	Number of samples			Findings	Area Under ROC Curve	Ref
		PC	Other pancreatic condition	Healthy pancreas			
LncRisk-7	Tissue	Discovery cohort: 25 ductal PC samples	-	Discovery cohort: 7 samples	Can discriminate ductal PC tumors from nonmalignant pancreatic tissue samples	0.829	(104)
		Pei cohort: 36 ductal PC samples		Pei cohort: 16 samples		0.833	
		Badea cohort: 36 ductal PC samples		Badea cohort: 36 samples		0.781	
5hLDS	Plasma	34 ductal PC samples	-	96 samples	The signature of the six 5hmC-modified lncRNAs revealed clinical potential as a diagnostic biomarker in discriminating ductal PC patients from non-diseased controls	Training cohort (n=65): 0.833 Testing cohort (n=65): 0.719	(105)
HOTAIR	Saliva	55 pre-operative PC samples; 6 post-operative PC samples;	20 benign pancreatic tumor samples;	55 samples	Can discriminate PC patients from patients with benign pancreatic tumors and non-diseased controls	0.880	(101)

PVT1	Saliva	55 pre-operative PC samples; 6 post-operative PC samples;	20 benign pancreatic tumor samples;	55 samples	Can discriminate PC patients from patients with benign pancreatic tumors and non-diseased controls	0.870	
ABHD11-ASI	Plasma	129 PC samples	112 chronic pancreatitis samples	61 samples;	Can discriminate PC patients from non-diseased controls; Its diagnostic potential was optimized when combined with CA19-9	0.887	(106)
RP11-263F15.1	Tissue	71 ductal PC samples	-	71 samples taken at least 5 centimeters from the tumor edge	Can be a potential diagnostic biomarker for ductal PC	0.843	(107)
HOTTIP-005	Plasma	144 PC samples	-	130 samples	Can discriminate PC patients from non-diseased controls	0.857	(108)
RP11-567G11.1	Plasma	144 PC samples	-	130 samples	Can discriminate PC patients from non-diseased controls	0.770	
HULC	Serum	60 PC samples	60 benign pancreatic disease samples	60 samples	Can discriminate PC patients from patients with benign pancreatic diseases and non-diseased controls	0.975	(103)
LINC-PIT	Plasma	59 PC samples	-	35 samples	Can be a potential diagnostic biomarker for ductal PC; Its diagnostic potential was optimized when combined with CA19-9	0.870	(102)

5hmC, 5-Hydroxymethylcytosine; *ABHD11-ASI*, *ABHD11* antisense RNA 1; CA19-9, Carbohydrate antigen 19-9; *HULC*, Hepatocellular carcinoma up-regulated long non-coding RNA; *HOTAIR*, Homeobox transcript antisense RNA; *HOTTIP*, *HOXA* distal transcript antisense RNA; *LINC-PIT*, Long intergenic non-protein coding RNA, p53 induced transcript; PC, Pancreatic cancer; *PVT1*, Plasmacytoma variant translocation 1 oncogene.

3.2. Prognosis

CA19-9 is a blood biomarker used to evaluate the prognosis of PC, and depending on its levels at the time of diagnosis, this marker can predict resectability or unresectability and a higher probability of metastasis (95). However, its performance is far from satisfying, and novel biomarkers are currently being investigated to provide more accurate prognostication of PC.

To evaluate the statistical significance of the impact of different levels of lncRNAs on the OS of PC patients, a Kaplan-Meier analysis can be executed. Additionally, univariate and multivariate Cox regression analyses of OS depending on high or low lncRNA levels, provide evidence as to if the lncRNA in question serves as a prognostic factor and independent prognostic factor, respectively. Table 3 gathers the results of investigations related to the significance of lncRNAs in the prognosis of PC.

Table 3 - Prognostic significance of some lncRNAs in PC patients.

LncRNA	Sample	Effect on OS	Prognostic factor in PC	Independent prognostic factor in PC	Pathological parameters related to the lncRNA	Ref
<i>HULC</i>	Serum	Negative correlation	Yes	Yes	Positive correlation with: Tumor size; T staging; M staging; Vascular invasion	(103)
<i>RP11-263F15.1</i>	Plasma	Negative correlation	Yes	No	Negative correlation: Histologic differentiation	(107)
<i>MALAT1</i>	Tissue	Negative correlation	Yes	Yes	Positive correlation: Clinical stage; Tumor size; Lymph node metastasis; Distant metastasis	(109)
<i>LncRNA-ATB</i>	Tissue	Positive correlation	Yes	Yes	Negative correlation: Lymphatic metastasis; Neural invasion; Clinical stage	(110)
<i>HMIlncRNA717</i>	Tissue	Positive correlation	Yes	Yes	Negative correlation: Clinical stage; Tumor size; Lymph node metastasis; Distant metastasis	(111)
<i>LINC-PIT</i>	Plasma	No effect detected	NA	NA	Negative correlation: Tumor recurrence	(102)
	Tumor tissue	Positive correlation	Yes	Yes	NA	
<i>HOTTIP-005</i>	Tissue	Negative correlation	Yes	Yes	Positive correlation: Pathological differentiation; N stage; Early recurrence	(108)
<i>XLOC_006390</i>		NA	No	No	Positive correlation: Neural invasion	
<i>RP11-567G11.1</i>		Negative correlation	Yes	Yes	Positive correlation: T stage; N stage	

CA19-9, Carbohydrate antigen 19-9; *HULC*, Hepatocellular carcinoma up-regulated long non-coding RNA; *HOTAIR*, Homeobox transcript antisense RNA; *HOTTIP*, *HOXA* distal transcript antisense RNA; *LINC-PIT*, Long intergenic non-protein coding RNA, p53 induced transcript; *MALAT1*, Metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1; NA, Non-applicable; OS, Overall survival; PC, Pancreatic cancer; *PVT1*, Plasmacytoma variant translocation 1 oncogene; Ref, References.

Panels of multiple lncRNAs are also under investigation. The different individual lncRNAs with prognostic value in PC can be incorporated into a formula that integrates their expression levels to determine a risk score. Patients are then stratified into either a high-risk or a low-risk group according to their risk scores. This is further validated by comparing the OS of patients of both groups. Wu *et al.* (112) developed a signature of *MIR600HG*, *AL137789.1*, and *AC079015.1*. Whilst *AL137789.1* was negatively associated with patient OS, *MIR600HG* and *AC079015.1* were positively associated with OS. After the risk score formula was developed, 88 patients were placed in the high-risk group and 89 patients in the low-risk

group. Kaplan-Meier analysis results showed that a significantly shorter OS was observed in the high-risk when compared to the low-risk group. The three lncRNA signature was then asserted by univariate analysis to be a prognostic factor in PC patient OS. Furthermore, a multivariate analysis proved that this signature was an independent prognostic factor.

Zhang *et al.* (113) developed a signature combining twelve PC prognosis-related lncRNAs. After classifying each lncRNA as either risky or protective, a risk score was developed and patients were divided into high-score and low-score groups. Kaplan-Meier analysis allowed the investigators to verify that patients in the low-score group had longer OS than those in the high-score group. Following univariate Cox analysis, this panel of twelve lncRNAs was confirmed as a prognostic indicator of OS of PC patients. Its prognostic value was proven to be independent in a multivariate analysis.

Furthermore, three of the six modified lncRNAs comprising the 5hLDS diagnostic model mentioned before were associated with OS (105). Kaplan-Meier results showed that high expression levels of *RP11-262A16.1* and *RP3-470B24.5* were associated with improved OS while high expression of *RP11-714M23.2* was associated with poorer OS outcomes. Thus, these three lncRNAs were used to formulate the 5hLPS risk score model to predict PC prognosis which placed patients in high-risk and low-risk groups. Patients in the low-risk group had improved OS outcomes than those of the high-risk group, in two separate cohorts. In both cohorts, the univariate Cox analysis showed that the 5hLPS score was significantly associated with OS making it a prognostic marker for OS in PC patients. The multivariate Cox analysis showed that 5hLPS was an independent prognostic model of OS in both cohorts.

3.3. Treatment

Curative surgery remains the only method to cure PC, however, as mentioned before, most patients are diagnosed past the resectable stage, with over 50% having distant metastasis at the time of diagnosis (4). Depending on the categorization of the tumor, differing treatments can be applied. If the tumor is localized, doesn't involve vascular structures, and has a high possibility of obtaining negative margins after surgery, it can be classified as resectable, and it is therefore eligible for curative surgery. Although still confined to the pancreas, borderline resectable tumors are worse candidates for this type of surgery because of their involvement with vascular structures or lower probability of negative resection (4,70).

Surgery can be preceded by neoadjuvant chemotherapy and/or pre-operative chemoradiation and followed by postoperative chemotherapy and/or chemoradiation. Patients with metastasized disease have unresectable tumors, and surgery can be performed mostly as a means to diminish symptoms (70). Locally advanced tumors are also considered

unresectable, although in some cases, excellent outcomes in neoadjuvant chemotherapy can result in eligibility for surgery (4,70).

There are diverse systemic chemotherapy regimens whose results vary depending on the disease stage. Different trials conducted on patients with resectable or borderline resectable, locally advanced, and metastatic PCs have been conducted. For patients with resectable and borderline resectable pancreatic tumors who underwent surgery and resection, modified FOLFIRINOX (mFOLFIRINOX) is the better option compared to gemcitabine alone (4). FOLFIRINOX is a combination therapy of intravenous 5-fluorouracil, oxaliplatin, irinotecan, and leucovorin with an additional 5-fluorouracil bolus. mFOLFIRINOX can be defined as a variation of this therapy with lower drug dosages or without the 5-fluorouracil bolus, intended for individuals less fit to receive the original regimen (114). Gemcitabine with nab-paclitaxel can be administered to patients who have contraindications to mFOLFIRINOX. Systemic regimens for patients with locally advanced and metastatic disease include FOLFIRINOX, mFOLFIRINOX, and an association of gemcitabine combined with nab-paclitaxel or with erlotinib (4). For patients with breast cancer gene (*BRCA*) mutations, maintenance therapy with olaparib can be considered when unresponsive to first-line therapies, which include platinum-based regimens, such as FOLFIRINOX (4,70). Immunotherapy drugs are being investigated in trials and there are currently two FDA-approved therapies, although none are approved in Europe.

Given the regulatory role that lncRNAs exert in several PC-related molecular pathways, they can provide a way to manage this disease and its development. Many *in vitro* and *in vivo* studies show that the up or downregulation of these molecules on PC cell lines, tissues, and animal models has a clear effect on PC behavior. These studies support the hypothesis that lncRNA manipulation in human pancreatic tumors can possibly lead to similar results, and therefore contribute to better results in PC management.

lncRNAs could potentially be the basis of novel targeted therapies for the treatment of PC. By delivering tumor-suppressive lncRNAs, these molecules could exert their anti-proliferative and pro-apoptotic roles in PC cells. This, however, would imply the development of delivery systems able to successfully carry lncRNAs to the tumor. *LINC01111* was found by Pan *et al.* (88) to be downregulated in tissues and plasma of PC patients and its levels were negatively correlated with disease severity. *In vitro*, higher levels of *LINC01111* slowed the rate of PC cell proliferation, migration, and invasion. *In vivo*, while lower levels of this molecule contributed to tumor growth, higher levels inhibited tumor metastasis. Ultimately, the tumor-

suppressive effects of *LINC01111* were associated with the SAPK/JNK signaling pathway, commonly deregulated in PC patients (87), via modulating DUSP1.

The same trend was observed by Xiong *et al.* (115) when analyzing the role of *LINC00052*, which is underexpressed in PC cells. *In vitro*, overexpression of this lncRNA in PC cells contributed to cell cycle arrest at the G1 phase, increased apoptosis, and inhibition of PC cell proliferation, invasion, and migration. These results were validated *in vivo*, where overexpression of *LINC00052* hindered pancreatic tumor growth. The investigators concluded that *LINC00052* exerted its tumor-suppressive effects via sponging miR-330-3p.

Onco-lncRNAs overexpressed in PC patients could serve as targets for therapies aiming to hamper their role in increasing PC cell viability and proliferation. Their inhibition in PC cell lines and animal models hinders PC cell survival, prompting the question of whether human trials will have similar outcomes.

An astounding number of *in vivo* and *in vitro* investigations have confirmed that overexpression or knockdown of certain onco-lncRNAs has a notorious impact on PC cells (75,76,79,80,83,89–93,117–121). Most notably, many lncRNAs have been highly associated with EMT. The expression of lncRNA *MEG8* is increased by TGF- β -induced EMT in PC cells. *MEG8* was found to recruit EZH2, a PRC2 subunit, to the regulatory regions of miR-34a and miR-203, inducing histone H3K27 methylation. This epigenetic modification caused pre-transcriptional silencing of said miRNAs, which are related to the promotion of an epithelial phenotype and repression of a mesenchymal one during EMT. *MEG8* was therefore responsible for enabling TGF- β -induced EMT in PC cells, by epigenetic silencing of miR-34a and miR-203 (89).

Another example is *MIR31HG*, positively correlated with EMT. Overexpression of *MIR31HG* was detected in TGF- β enriched ductal PC cells, along with increasing levels of mesenchymal markers. *In vitro* evidence showed that the knockdown of *MIR31HG* decreased TGF- β -induced EMT, whilst *MIR31HG* overexpression enabled it. It was therefore concluded that this lncRNA could positively regulate TGF- β signaling and consequent EMT (90).

LINC01614 (92) and *LINC01133* (93), were associated with the Wnt/ β -catenin pathway in PC cells, a pathway highly altered in PC patients (87). Both were found to be overexpressed in PC cell lines, and both promoted the stabilization of β -catenin levels by hindering the formation of its degradation complex. *In vitro*, *LINC01614* knockdown suppressed cell proliferation and invasion, with reduced EMT markers, and induced cell cycle arrest at G1/G0. *In vivo*, *LINC01614* knockdown slowed tumor growth. *LINC01133* had analogous results: *in vitro*, overexpression of this lncRNA prompted PC cell proliferation, migration, and invasion

while also decreasing apoptosis. It also led to an increase in EMT markers. *In vivo*, upregulation of *LINC01133* promoted tumor growth and metastasis.

LncRNAs can also influence the development of treatment resistance to different regimens. Evidence on this topic relating to systemic therapy is gathered in Table 4.

Table 4 - Role of lncRNAs on PC in systemic chemotherapy resistance.

LncRNA	Expression PC cell lines	Drug tested	Results	Corroborated by <i>in vivo</i> experiments	Targets	Ref
<i>HOTTIP</i>	↑ PANC-1; ↑ HS766T; ↑ AsPC-1	Cisplatin	Inhibition of <i>HOTTIP</i> increased cisplatin sensitivity of cisplatin-resistant PC cells	NA	miR-137	(121)
<i>PVT1</i>	↑ PANC-1/Gem; ↑ SW1990/Gem	Gemcitabine	<i>PVT1</i> overexpression led to increased PC cell gemcitabine resistance	Yes	miR-619-5p Pygo2	(120)
<i>HIF1A-ASI</i>	↑ BxPC3/Gem-R	Gemcitabine	Knockdown of <i>HIF1A-ASI</i> led to increased sensitivity of gemcitabine-resistant PC cells to treatment with gemcitabine	Yes	YBI/HIF1 α	(119)
<i>SBF2-ASI</i>	↑ PANC-1; ↑ AsPC-1; ↑ BxPC3 ↑ HPAC	Gemcitabine	Knockdown of <i>SBF2-ASI</i> increased the sensitivity of gemcitabine-resistant PC cells to treatment; Its upregulation showed an opposite trend	NA	miR-142-3p/TWFI	(118)
<i>UPK1A-ASI</i>	↑ Panc-1/CAFR; ↑ MIAPaCa-2/CAFR	Oxaliplatin	<i>UPK1A-ASI</i> was essential for cancer-associated fibroblast-induced oxaliplatin resistance in PC cells	Yes	XRCC6; XRCC5	(117)
<i>GASS</i>	↓ SW1990/GEM; ↓ PATU8988/GEM	Gemcitabine Fluorouracil	Overexpression of <i>GASS</i> inhibited PC cell viability in drug-resistant and drug-sensitive cell lines	Yes	miR-181c-5p/MST1	(116)
<i>SNHG7</i>	↑ PANC-1 co-cultured with MSC; ↑ AsPC-1 co-cultured with MSC	FOLFIRINOX	<i>SNHG7</i> was associated with MSC-induced FOLFIRINOX resistance in PC cells	NA	Notch1	(91)

BxPC3/Gem-R, Gemcitabine resistant BxPC3 cell line; CAFR, Cancer-associated fibroblast subset derived from platinum-resistant ductal pancreatic cancer patient; *GASS*, Growth arrest-specific 5; *HIF1-ASI*, Hypoxia-inducible factor 1 subunit alpha antisense RNA 1; HIF1 α , Hypoxia-inducible factor 1 subunit α ; *HOTTIP*, *HOXA* distal transcript antisense RNA; MST1, Macrophage stimulating 1; MSC, Mesenchymal stem cell; PANC-1/Gem, Gemcitabine resistant PANC-1 cell line; PATU8988/GEM, Gemcitabine resistant PATU8988 cell line; PC, Pancreatic cancer; *PVT1*, Plasmacytoma variant translocation 1 oncogene; *SBF2-ASI*, Set binding factor 2 antisense RNA 1; *SNHG7*, Small nucleolar RNA host gene 16; SW1990/GEM, Gemcitabine resistant SW1990 cell line; TWFI, Twinfilin actin binding protein 1; *UPK1A-ASI*, Uroplakin 1a antisense RNA 1; XRCC5, X-ray repair cross complementing 5; XRCC6, X-ray repair cross complementing 6

Apart from modulating PC cell viability to chemotherapy treatments, more evidence suggests that lncRNAs might also be related to the radiosensitivity of PC cells (122). An investigation conducted by Wu *et al.* (123) found that *HOTAIR* levels were increased in PC cell

lines after radiation therapy in a time and dose-dependent way. PC cell lines PANC-1 and AsPC-1 were transfected with small interfering RNAs (siRNAs) targeting *HOTAIR* and then submitted to radiation treatment. Results showed that these cells presented enhanced radiosensitivity when compared to their control counterparts. The investigators went further and established a connection between the *HOTAIR*-induced radioresistance and autophagy. Jiang *et al.* (124) also concluded that *HOTAIR* was upregulated in response to X-ray irradiation. Based on the results of their investigation, they also inferred that this lncRNA led to radioresistance, although this time in PANC-1 and Capan-2 cell lines. In this investigation, the radioresistance induced by *HOTAIR* was thought to be associated with the Wnt/ β -catenin pathway via modulation of WIF-1, an inhibitor of this pathway.

These findings suggest that besides having the potential to be novel therapeutic agents and targets to advanced therapies, lncRNAs can serve as adjuvant agents to enhance the outcomes of the existing therapeutic regimens.

4. CONCLUDING REMARKS

The high sensitivity and specificity of many lncRNAs for the diagnosis of different malignancies emphasizes their relevance for potential clinical use (97). lncRNAs can be found in the bloodstream unbound or within extracellular vesicles (125). They can also be encapsulated in high-density lipoproteins and apoptotic bodies, and even bound to protein complexes (126,127). However, their potential degradation in the bloodstream, via ribonuclease activity for example, does pose the question as to whether their levels are proportional to the ones observed on tissue samples (97). Evidence also points to multi-panel biomarkers to be the best approach to diagnose or prognosticate PC (97), and signatures using several lncRNAs show promising sensitivity and specificity values (104,105,112,113).

Although lncRNAs are promising biomarkers for the diagnosis and prognosis of PC, the protocols and techniques need to be optimized and standardized for their detection and quantification. The existing methodologies for the detection and quantification of lncRNAs are based on microarray detection, quantitative RT-PCR (RT-qPCR), and RNA sequencing (97,125,126). However, most of the techniques demand RNA extraction and purification, and PCR amplification, complexifying the protocol which is a barrier to their use in clinical practice (125,126). New detection techniques are currently being developed to optimize lncRNAs, including those concerning PC (127).

Targeting lncRNAs in order to convey a therapeutic response might also be plausible. Different technologies can be applied to achieve post-transcriptional silencing of PC-specific

onco-lncRNAs (128-130). To promote their degradation, antisense oligonucleotides, small interfering RNAs, short hairpin RNAs, deoxyribozymes and ribozymes can be used. Mixmers, on the other hand, can be used to promote steric inhibition of lncRNAs. Natural antisense transcripts (NATs), which are lncRNAs transcribed in an antisense manner from gene loci they can regulate in *cis*, can be inhibited by antagonists to NATs. Furthermore, to decrease the expression of lncRNAs in a pre-transcriptional phase, genome editing tools, such as clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)/Cas9 can be applied (128-130). CRISPR interference can also be used to sterically inhibit the transcription of lncRNAs (129). Post-transcriptional interference with lncRNAs can be achieved by inducing chemical alterations that affect their stability, or interfere with their functions, namely their ability to bind to proteins and regulate complex networks (129).

The clinical utilization of therapeutic lncRNAs is hindered by the possibility of immunogenicity, and adequate delivery systems need to be optimized to inhibit their premature degradation, as well as to increase their on-target uptake (131). Therapeutic lncRNAs could be delivered by lipid nanoparticles, virus-based delivery systems, such as lentiviral vectors, nanoparticles, among others. Extracellular vesicles are promising carriers, for they naturally occur in the organism and lncRNAs have been identified as one of their cargo (132).

As this is an emerging field, there is much to unveil about the importance of lncRNAs in development and disease. Their involvement in PC is notorious, and as more evidence gathers, it becomes evident that they may play a vital role in the management of this disease.

5. REFERENCES

- (1) **Health at a Glance: Europe 2022**: OECD, 2022. ISBN 9789264462113.
- (2) LEE, Shu-Hui *et al.* - Association of time interval between cancer diagnosis and initiation of palliative chemotherapy with overall survival in patients with unresectable pancreatic cancer. **Cancer Medicine**. ISSN 2045-7634. 8:7 (2019) 3471–3478. doi: 10.1002/cam4.2254.
- (3) RAHIB, Lola *et al.* - Estimated Projection of US Cancer Incidence and Death to 2040. **JAMA network open**. ISSN 2574-3805. 4:4 (2021) e214708. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.4708.
- (4) MIZRAHI, Jonathan D. *et al.* - Pancreatic cancer. **The Lancet**. ISSN 01406736. 395:10242 (2020) 2008–2020. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30974-0.
- (5) SIEGEL, Rebecca L. *et al.* - Cancer statistics, 2023. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**. ISSN 0007-9235. 73:1 (2023) 17–48. doi: 10.3322/caac.21763.
- (6) COOPER, Geoffrey M. - The Development and Causes of Cancer. **The Cell: A Molecular Approach**. 2nd. ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 2000. ISBN 0-87893-106-6.
- (7) GUTSCHNER, Tony; DIEDERICHS, Sven - The hallmarks of cancer. **RNA Biology**. ISSN 1547-6286. 9:6 (2012) 703–719. doi: 10.4161/rna.20481.
- (8) WISHART, David S. - Is Cancer a Genetic Disease or a Metabolic Disease? **EBioMedicine**. ISSN 2352-3964. 2:6 (2015) 478–9. doi: 10.1016/j.ebiom.2015.05.022
- (9) HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. - The hallmarks of cancer. **Cell**. ISSN 0092-8674. 100:1 (2000) 57–70. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81683-9.
- (10) HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. - Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**. ISSN 00928674. 144:5 (2011) 646–674. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
- (11) DAASSI, Dhouha; MAHONEY, Kathleen M.; FREEMAN, Gordon J. - The importance of exosomal PDL1 in tumour immune evasion. **Nature Reviews Immunology**. ISSN 1474-1733. 20:4 (2020) 209–215. doi: 10.1038/s41577-019-0264-y.
- (12) VINAY, Dass S. *et al.* - Immune evasion in cancer: Mechanistic basis and therapeutic strategies. **Seminars in cancer biology**. ISSN 1096-3650. 35 Suppl:2015) S185–S198. doi: 10.1016/j.semcancer.2015.03.004.
- (13) YOU, Li *et al.* - The role of hypoxia-inducible factor 1 in tumor immune evasion. **Medicinal research reviews**. ISSN 1098-1128. 41:3 (2021) 1622–1643. doi: 10.1002/med.21771.

- (14) HEIDEN, Matthew G. VANDER - Targeting cancer metabolism: a therapeutic window opens. **Nature Reviews Drug Discovery**. ISSN 1474-1776. 10:9 (2011) 671–684. doi: 10.1038/nrd3504.
- (15) NELSON, David L.; COX, Michael M. - **Lehninger Principles of Biochemistry**. 7th ed. New York: Freeman, WH, 2017.
- (16) LIBERTI, Maria V; LOCASALE, Jason W. - The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? **Trends in biochemical sciences**. ISSN 0968-0004. 41:3 (2016) 211–218. doi: 10.1016/j.tibs.2015.12.001.
- (17) INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM - Finishing the euchromatic sequence of the human genome. **Nature**. ISSN 0028-0836. 431:7011 (2004) 931–945. doi: 10.1038/nature03001.
- (18) BEERMANN, Julia *et al.* - Non-coding RNAs in Development and Disease: Background, Mechanisms, and Therapeutic Approaches. **Physiological Reviews**. ISSN 0031-9333. 96:4 (2016) 1297–1325. doi: 10.1152/physrev.00041.2015.
- (19) JARROUX, Julien; MORILLON, Antonin; PINSKAYA, Marina - History, Discovery, and Classification of lncRNAs. In **Advances in Experimental Medicine and Biology**. p. 1–46.
- (20) CALORE, Federica; LOVAT, Francesca; GAROFALO, Michela - Non-Coding RNAs and Cancer. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 1422-0067. 14:8 (2013) 17085–17110. doi: 10.3390/ijms140817085.
- (21) HARROW, Jennifer *et al.* - GENCODE: The reference human genome annotation for The ENCODE Project. **Genome Research**. ISSN 1088-9051. 22:9 (2012) 1760–1774. doi: 10.1101/gr.135350.111.
- (22) STATELLO, Luisa *et al.* - Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**. ISSN 1471-0072. 22:2 (2021) 96–118. doi: 10.1038/s41580-020-00315-9.
- (23) LI, Jing; XUAN, Zhenyu; LIU, Changning - Long Non-Coding RNAs and Complex Human Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 1422-0067. 14:9 (2013) 18790–18808. doi: 10.3390/ijms140918790.
- (24) YANG, Guodong; LU, Xiaozhao; YUAN, Lijun - lncRNA: a link between RNA and cancer. **Biochimica et biophysica acta**. ISSN 0006-3002. 1839:11 (2014) 1097–109. doi: 10.1016/j.bbagr.2014.08.012.

- (25) BRIDGES, Mary Catherine; DAULAGALA, Amanda C.; KOURTIDIS, Antonis - LNCcation: lncRNA localization and function. **Journal of Cell Biology**. ISSN 0021-9525. 220:2 (2021). doi: 10.1083/jcb.202009045.
- (26) ZHANG, Xiaopei *et al.* - Mechanisms and Functions of Long Non-Coding RNAs at Multiple Regulatory Levels. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 1422-0067. 20:22 (2019) 5573. doi: 10.3390/ijms20225573.
- (27) YEASMIN, Fouzia; YADA, Tetsushi; AKIMITSU, Nobuyoshi - Micropeptides Encoded in Transcripts Previously Identified as Long Noncoding RNAs: A New Chapter in Transcriptomics and Proteomics. **Frontiers in Genetics**. ISSN 1664-8021. 9:144 (2018). doi: 10.3389/fgene.2018.00144.
- (28) PEI, Hailong *et al.* - The Tumorigenic Effect of lncRNA AFAP1-AS1 is Mediated by Translated Peptide ATMLP Under the Control of m⁶A Methylation. **Advanced Science**. ISSN 2198-3844. 10:13 (2023). doi: 10.1002/advs.202300314.
- (29) PONTING, Chris P.; OLIVER, Peter L.; REIK, Wolf - Evolution and Functions of Long Noncoding RNAs. **Cell**. ISSN 00928674. 136:4 (2009) 629–641. doi: 10.1016/j.cell.2009.02.006.
- (30) CHEN, Ling-Ling - Linking Long Noncoding RNA Localization and Function. **Trends in Biochemical Sciences**. ISSN 09680004. 41:9 (2016) 761–772. doi: 10.1016/j.tibs.2016.07.003.
- (31) BHAT, Shakil Ahmad *et al.* - Long non-coding RNAs: Mechanism of action and functional utility. **Non-coding RNA research**. ISSN 2468-0540. 1:1 (2016) 43–50. doi: 10.1016/j.ncrna.2016.11.002.
- (32) DUEVA, Rositsa *et al.* - Neutralization of the Positive Charges on Histone Tails by RNA Promotes an Open Chromatin Structure. **Cell Chemical Biology**. ISSN 24519456. 26:10 (2019) 1436-1449.e5. doi: 10.1016/j.chembiol.2019.08.002.
- (33) YE, Jingliang *et al.* - A novel lncRNA-LINC01116 regulates tumorigenesis of glioma by targeting VEGFA. **International Journal of Cancer**. ISSN 0020-7136. 146:1 (2020) 248–261. doi: 10.1002/ijc.32483.
- (34) CHEN, Shuo *et al.* - lncRNA PCGEM1 Induces Ovarian Carcinoma Tumorigenesis and Progression Through RhoA Pathway. **Cellular Physiology and Biochemistry**. ISSN 1015-8987. 47:4 (2018) 1578–1588. doi: 10.1159/000490931.
- (35) SHENG, Jia-Qi *et al.* - lncRNA NBR2 inhibits tumorigenesis by regulating autophagy in hepatocellular carcinoma. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. ISSN 07533322. 133:2021) 111023. doi: 10.1016/j.biopha.2020.111023.

- (36) ZHANG, Zhuoran *et al.* - Exosomal transfer of long non-coding RNA SBF2-AS1 enhances chemoresistance to temozolomide in glioblastoma. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**. ISSN 1756-9966. 38:1 (2019) 166. doi: 10.1186/s13046-019-1139-6.
- (37) QU, Le *et al.* - Exosome-Transmitted lncARSR Promotes Sunitinib Resistance in Renal Cancer by Acting as a Competing Endogenous RNA. **Cancer Cell**. ISSN 15356108. 29:5 (2016) 653–668. doi: 10.1016/j.ccell.2016.03.004.
- (38) ASHRAFIZAVEH, Saeed *et al.* - Long non-coding RNAs in the doxorubicin resistance of cancer cells. **Cancer letters**. ISSN 1872-7980. 508:2021) 104–114. doi: 10.1016/j.canlet.2021.03.018.
- (39) TSAI, Miao-Chih *et al.* - Long Noncoding RNA as Modular Scaffold of Histone Modification Complexes. **Science**. ISSN 0036-8075. 329:5992 (2010) 689–693. doi: 10.1126/science.1192002.
- (40) GUPTA, Rajnish A. *et al.* - Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. **Nature**. ISSN 0028-0836. 464:7291 (2010) 1071–1076. doi: 10.1038/nature08975.
- (41) KIM, K. *et al.* - HOTAIR is a negative prognostic factor and exhibits pro-oncogenic activity in pancreatic cancer. **Oncogene**. ISSN 0950-9232. 32:13 (2013) 1616–1625. doi: 10.1038/onc.2012.193.
- (42) DING, Chaofeng *et al.* - Long Non-Coding RNA HOTAIR Promotes Cell Migration and Invasion via Down-Regulation of RNA Binding Motif Protein 38 in Hepatocellular Carcinoma Cells. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 1422-0067. 15:3 (2014) 4060–4076. doi: 10.3390/ijms15034060.
- (43) KOGO, Ryunosuke *et al.* - Long Noncoding RNA HOTAIR Regulates Polycomb-Dependent Chromatin Modification and Is Associated with Poor Prognosis in Colorectal Cancers. **Cancer Research**. ISSN 0008-5472. 71:20 (2011) 6320–6326. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1021.
- (44) GHAFOURI-FARD, Soudeh; ESMAEILI, Mohammadhosein; TAHERI, Mohammad - H19 lncRNA: Roles in tumorigenesis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. ISSN 07533322. 123:109774 (2020). doi: 10.1016/j.biopha.2019.109774.
- (45) WANG, Ji *et al.* - The long noncoding RNA H19 promotes tamoxifen resistance in breast cancer via autophagy. **Journal of Hematology & Oncology**. ISSN 1756-8722. 12:1 (2019) 81. doi: 10.1186/s13045-019-0747-0.

- (46) WU, Tianyi *et al.* - Regulation of laryngeal squamous cell cancer progression by the lncRNA H19/miR-148a-3p/DNMT1 axis. **Oncotarget**. ISSN 1949-2553. 7:10 (2016) 11553–11566. doi: 10.18632/oncotarget.7270.
- (47) BUSSEMAKERS, M. J. *et al.* - DD3: a new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. **Cancer research**. ISSN 0008-5472. 59:23 (1999) 5975–9.
- (48) KOK, Jacques B. DE *et al.* - DD3(PCA3), a very sensitive and specific marker to detect prostate tumors. **Cancer research**. ISSN 0008-5472. 62:9 (2002) 2695–8.
- (49) WEI, John T. *et al.* - Early Detection of Prostate Cancer: AUA/SUO Guideline Part I: Prostate Cancer Screening. **Journal of Urology**. ISSN 0022-5347. 210:1 (2023) 46–53. doi: 10.1097/JU.0000000000003491.
- (50) LEYTEN, Gisele H. J. M. *et al.* - Prospective Multicentre Evaluation of PCA3 and TMPRSS2-ERG Gene Fusions as Diagnostic and Prognostic Urinary Biomarkers for Prostate Cancer. **European Urology**. ISSN 03022838. 65:3 (2014) 534–542. doi: 10.1016/j.eururo.2012.11.014.
- (51) HAESE, Alexander *et al.* - Clinical Utility of the PCA3 Urine Assay in European Men Scheduled for Repeat Biopsy. **European Urology**. ISSN 03022838. 54:5 (2008) 1081–1088. doi: 10.1016/j.eururo.2008.06.071.
- (52) JI, Ping *et al.* - MALAT-1, a novel noncoding RNA, and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. **Oncogene**. ISSN 0950-9232. 22:39 (2003) 8031–41. doi: 10.1038/sj.onc.1206928.
- (53) GOYAL, Bela *et al.* - Diagnostic, prognostic, and therapeutic significance of long non-coding RNA MALAT1 in cancer. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**. ISSN 0304419X. 1875:2 (2021) 188502. doi: 10.1016/j.bbcan.2021.188502.
- (54) GORDON, Michael A. *et al.* - The long non-coding RNA MALAT1 promotes ovarian cancer progression by regulating RBFOX2-mediated alternative splicing. **Molecular Carcinogenesis**. ISSN 08991987. 58:2 (2019) 196–205. doi: 10.1002/mc.22919.
- (55) ZHOU, Yunli; ZHANG, Xun; KLIBANSKI, Anne - MEG3 noncoding RNA: a tumor suppressor. **Journal of Molecular Endocrinology**. ISSN 0952-5041. 48:3 (2012) R45–R53. doi: 10.1530/JME-12-0008.
- (56) ZHOU, Yunli *et al.* - Activation of p53 by MEG3 Non-coding RNA. **Journal of Biological Chemistry**. ISSN 00219258. 282:34 (2007) 24731–24742. doi: 10.1074/jbc.M702029200.
- (57) WEI, G. H.; WANG, X. - lncRNA MEG3 inhibit proliferation and metastasis of gastric cancer via p53 signaling pathway. **European review for medical and pharmacological sciences**. ISSN 2284-0729. 21:17 (2017) 3850–3856.

- (58) PENG, Weizhao *et al.* - Long non-coding RNA MEG3 functions as a competing endogenous RNA to regulate gastric cancer progression. **Journal of experimental & clinical cancer research : CR**. ISSN 1756-9966. 34:1 (2015) 79. doi: 10.1186/s13046-015-0197-7.
- (59) MOURTADA-MAARABOUNI, Mirna *et al.* - Growth arrest in human T-cells is controlled by the non-coding RNA growth-arrest-specific transcript 5 (GAS5). **Journal of Cell Science**. ISSN 1477-9137. 121:7 (2008) 939–946. doi: 10.1242/jcs.024646.
- (60) PICKARD, M. R.; MOURTADA-MAARABOUNI, M.; WILLIAMS, G. T. - Long non-coding RNA GAS5 regulates apoptosis in prostate cancer cell lines. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**. ISSN 09254439. 1832:10 (2013) 1613–1623. doi: 10.1016/j.bbadis.2013.05.005.
- (61) XUE, Dong *et al.* - LncRNA GAS5 inhibits proliferation and progression of prostate cancer by targeting miR-103 through AKT/mTOR signaling pathway. **Tumor Biology**. ISSN 1010-4283. 37:12 (2016) 16187–16197. doi: 10.1007/s13277-016-5429-8.
- (62) YU, Gan *et al.* - Pseudogene PTENPI Functions as a Competing Endogenous RNA to Suppress Clear-Cell Renal Cell Carcinoma Progression. **Molecular Cancer Therapeutics**. ISSN 1535-7163. 13:12 (2014) 3086–3097. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-14-0245.
- (63) CID-ARREGUI, Angel - Perspectives in the treatment of pancreatic adenocarcinoma. **World Journal of Gastroenterology**. ISSN 1007-9327. 21:31 (2015) 9297. doi: 10.3748/wjg.v21.i31.9297.
- (64) BASTIDAS-PONCE, Aimée *et al.* - Cellular and molecular mechanisms coordinating pancreas development. **Development**. ISSN 1477-9129. 144:16 (2017) 2873–2888. doi: 10.1242/dev.140756.
- (65) LEUNG, Po Sing - Overview of the Pancreas. In **The Renin-Angiotensin System: Current Research Progress in The Pancreas. Advances in Experimental Medicine and Biology**. Springer, Dordrecht, 2010 v. 690. p. 3–12.
- (66) HRUBAN, Ralph H. *et al.* - Why is pancreatic cancer so deadly? The pathologist's view. **The Journal of Pathology**. ISSN 0022-3417. 248:2 (2019) 131–141. doi: 10.1002/path.5260.
- (67) DISTLER, M. *et al.* - Precursor lesions for sporadic pancreatic cancer: PanIN, IPMN, and MCN. **BioMed research international**. ISSN 2314-6141. 2014:2014) 474905. doi: 10.1155/2014/474905.

- (68) COOPER, Caroline L.; O'TOOLE, Sandra A.; KENCH, James G. - Classification, morphology and molecular pathology of premalignant lesions of the pancreas. **Pathology**. ISSN 00313025. 45:3 (2013) 286–304. doi: 10.1097/PAT.0b013e32835f2205.
- (69) ZAMBONI, Giuseppe *et al.* - Precancerous lesions of the pancreas. **Best practice & research. Clinical gastroenterology**. ISSN 1532-1916. 27:2 (2013) 299–322. doi: 10.1016/j.bpg.2013.04.001.
- (70) DUCREUX, M. *et al.* - Cancer of the pancreas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. **Annals of Oncology**. ISSN 09237534. 26:2015) v56–v68. doi: 10.1093/annonc/mdv295.
- (71) PERMUTH, Jennifer B. *et al.* - Linking Circulating Long Non-coding RNAs to the Diagnosis and Malignant Prediction of Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas. **Scientific Reports**. ISSN 2045-2322. 7:1 (2017) 10484. doi: 10.1038/s41598-017-09754-5.
- (72) FU, Xue-Liang *et al.* - Analysis of long non-coding RNA expression profiles in pancreatic ductal adenocarcinoma. **Scientific Reports**. ISSN 2045-2322. 6:1 (2016) 33535. doi: 10.1038/srep33535.
- (73) POLIREDDY, Kishore; CHEN, Qi - Cancer of the Pancreas: Molecular Pathways and Current Advancement in Treatment. **Journal of Cancer**. ISSN 1837-9664. 7:11 (2016) 1497–1514. doi: 10.7150/jca.14922.
- (74) MCCAIN, Jack - The MAPK (ERK) Pathway: Investigational Combinations for the Treatment Of BRAF-Mutated Metastatic Melanoma. **P & T: a peer-reviewed journal for formulary management**. ISSN 1052-1372. 38:2 (2013) 96–108.
- (75) LI, Xiang *et al.* - Hypoxia-induced lncRNA-NUTF2P3-001 contributes to tumorigenesis of pancreatic cancer by derepressing the miR-3923/KRAS pathway. **Oncotarget**. ISSN 1949-2553. 7:5 (2016) 6000–6014. doi: 10.18632/oncotarget.6830.
- (76) LIU, Pingping *et al.* - The lncRNA MALAT1 acts as a competing endogenous RNA to regulate KRAS expression by sponging miR-217 in pancreatic ductal adenocarcinoma. **Scientific Reports**. ISSN 2045-2322. 7:1 (2017) 5186. doi: 10.1038/s41598-017-05274-4.
- (77) CHENG, Rongjie *et al.* - A novel protein RASON encoded by a lncRNA controls oncogenic RAS signaling in KRAS mutant cancers. **Cell Research**. ISSN 1748-7838. 33:1 (2022) 30–45. doi: 10.1038/s41422-022-00726-7.

- (78) ZHAO, Ming; MISHRA, Lopa; DENG, Chu-Xia - The role of TGF- β /SMAD4 signaling in cancer. **International Journal of Biological Sciences**. ISSN 1449-2288. 14:2 (2018) 111–123. doi: 10.7150/ijbs.23230.
- (79) YU, Yi *et al.* - Long non-coding RNA SNHG16 decreased SMAD4 to induce gemcitabine resistance in pancreatic cancer via EZH2-mediated epigenetic modification. **The Kaohsiung Journal of Medical Sciences**. ISSN 1607-551X. 38:10 (2022) 981–991. doi: 10.1002/kjm2.12574.
- (80) ZHANG, Xingxing *et al.* - Long non coding RNA PVT1 promotes epithelial mesenchymal transition via the TGF β /Smad pathway in pancreatic cancer cells. **Oncology reports**. ISSN 1791-2431. 40:2 (2018) 1093–1102. doi: 10.3892/or.2018.6462.
- (81) HU, Duanmin *et al.* - Fenofibrate inhibited pancreatic cancer cells proliferation via activation of p53 mediated by upregulation of LncRNA MEG3. **Biochemical and biophysical research communications**. ISSN 1090-2104. 471:2 (2016) 290–5. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.01.169.
- (82) XU, Jin *et al.* - Pancreatic Cancer Progression Is Regulated by IPO7/p53/LncRNA MALAT1/MiR-129-5p Positive Feedback Loop. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**. ISSN 2296-634X. 9:2021). doi: 10.3389/fcell.2021.630262.
- (83) LIU, Mingliang *et al.* - Hypoxia-induced feedback of HIF-1 α and lncRNA-CF129 contributes to pancreatic cancer progression through stabilization of p53 protein. **Theranostics**. ISSN 1838-7640. 9:16 (2019) 4795–4810. doi: 10.7150/thno.30988.
- (84) MALUMBRES, Marcos; BARBACID, Mariano - Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. **Nature reviews. Cancer**. ISSN 1474-1768. 9:3 (2009) 153–66. doi: 10.1038/nrc2602.
- (85) LI, Xingang *et al.* - A novel interplay between HOTAIR and DNA methylation in osteosarcoma cells indicates a new therapeutic strategy. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**. ISSN 0171-5216. 143:11 (2017) 2189–2200. doi: 10.1007/s00432-017-2478-3.
- (86) FU, Wei-Ming *et al.* - Hotair mediates hepatocarcinogenesis through suppressing miRNA-218 expression and activating PI4 and PI6 signaling. **Journal of Hepatology**. ISSN 01688278. 63:4 (2015) 886–895. doi: 10.1016/j.jhep.2015.05.016.
- (87) JONES, Siân *et al.* - Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses. **Science (New York, N.Y.)**. ISSN 1095-9203. 321:5897 (2008) 1801–6. doi: 10.1126/science.1164368.

- (88) PAN, Shutao *et al.* - Long noncoding RNA LINC01111 suppresses pancreatic cancer aggressiveness by regulating DUSP1 expression via microRNA-3924. **Cell Death & Disease**. ISSN 2041-4889. 10:12 (2019) 883. doi: 10.1038/s41419-019-2123-y.
- (89) TERASHIMA, Minoru *et al.* - MEG8 long noncoding RNA contributes to epigenetic progression of the epithelial-mesenchymal transition of lung and pancreatic cancer cells. **Journal of Biological Chemistry**. ISSN 00219258. 293:47 (2018) 18016–18030. doi: 10.1074/jbc.RA118.004006.
- (90) KO, Ching-Chung; HSIEH, Yao-Yu; YANG, Pei-Ming - Long Non-Coding RNA MIR31HG Promotes the Transforming Growth Factor β -Induced Epithelial-Mesenchymal Transition in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Cells. **International Journal of Molecular Sciences**. ISSN 1422-0067. 23:12 (2022) 6559. doi: 10.3390/ijms23126559.
- (91) CHENG, Dongfeng *et al.* - LncRNA SNHG7 Regulates Mesenchymal Stem Cell Through the Notch1/Jagged1/Hes-1 Signaling Pathway and Influences Folfirinox Resistance in Pancreatic Cancer. **Frontiers in Oncology**. ISSN 2234-943X. 11:2021). doi: 10.3389/fonc.2021.719855.
- (92) CHEN, Long-Jiang *et al.* - Long non coding RNA 01614 hyperactivates WNT/ β catenin signaling to promote pancreatic cancer progression by suppressing GSK 3 β . **International Journal of Oncology**. ISSN 1019-6439. 61:4 (2022) 116. doi: 10.3892/ijo.2022.5406.
- (93) LIU, Yang *et al.* - Tumor-derived exosomal long noncoding RNA LINC01133, regulated by Periostin, contributes to pancreatic ductal adenocarcinoma epithelial-mesenchymal transition through the Wnt/ β -catenin pathway by silencing AXIN2. **Oncogene**. ISSN 0950-9232. 40:17 (2021) 3164–3179. doi: 10.1038/s41388-021-01762-0.
- (94) JELSKI, Wojciech; MROCZKO, Barbara - Biochemical diagnostics of pancreatic cancer - Present and future. **Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry**. ISSN 1873-3492. 498:2019) 47–51. doi: 10.1016/j.cca.2019.08.013.
- (95) BARHLI, Aline *et al.* - Prognostic stratification of resected pancreatic ductal adenocarcinoma: Past, present, and future. **Digestive and liver disease: official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver**. ISSN 1878-3562. 50:10 (2018) 979–990. doi: 10.1016/j.dld.2018.08.009.
- (96) KANE, Laura E. *et al.* - Diagnostic Accuracy of Blood-based Biomarkers for Pancreatic Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. **Cancer Research Communications**. ISSN 2767-9764. 2:10 (2022) 1229–1243. doi: 10.1158/2767-9764.CRC-22-0190.

- (97) BADOWSKI, Cedric; HE, Bing; GARMIRE, Lana X. - Blood-derived lncRNAs as biomarkers for cancer diagnosis: the Good, the Bad and the Beauty. *npj Precision Oncology*. ISSN 2397-768X. 6:1 (2022) 40. doi: 10.1038/s41698-022-00283-7.
- (98) PARDINI, Barbara *et al.* - Noncoding RNAs in Extracellular Fluids as Cancer Biomarkers: The New Frontier of Liquid Biopsies. *Cancers*. ISSN 2072-6694. 11:8 (2019) 1170. doi: 10.3390/cancers11081170.
- (99) JIANG, Chunjie *et al.* - Identifying and functionally characterizing tissue-specific and ubiquitously expressed human lncRNAs. *Oncotarget*. ISSN 1949-2553. 7:6 (2016) 7120–33. doi: 10.18632/oncotarget.6859.
- (100) HOO, Zhe Hui; CANDLISH, Jane; TEARE, Dawn - What is an ROC curve? *Emergency medicine journal : EMJ*. ISSN 1472-0213. 34:6 (2017) 357–359. doi: 10.1136/emmed-2017-206735.
- (101) XIE, Zijun *et al.* - Salivary HOTAIR and PVT1 as novel biomarkers for early pancreatic cancer. *Oncotarget*. ISSN 1949-2553. 7:18 (2016) 25408–25419. doi: 10.18632/oncotarget.8323.
- (102) LI, Le *et al.* - Plasma and tumor levels of Linc-pint are diagnostic and prognostic biomarkers for pancreatic cancer. *Oncotarget*. ISSN 1949-2553. 7:44 (2016) 71773–71781. doi: 10.18632/oncotarget.12365.
- (103) OU, Zheng-Lin; LUO, Zhen; LU, Ye-Bin - Long non-coding RNA HULC as a diagnostic and prognostic marker of pancreatic cancer. *World Journal of Gastroenterology*. ISSN 1007-9327. 25:46 (2019) 6728–6742. doi: 10.3748/wjg.v25.i46.6728.
- (104) ZHOU, Meng *et al.* - Construction and analysis of dysregulated lncRNA-associated ceRNA network identified novel lncRNA biomarkers for early diagnosis of human pancreatic cancer. *Oncotarget*. ISSN 1949-2553. 7:35 (2016) 56383–56394. doi: 10.18632/oncotarget.10891.
- (105) LI, Shuangquan *et al.* - Integrative Analysis of 5-Hydroxymethylcytosine and Transcriptional Profiling Identified 5hmC-Modified lncRNA Panel as Non-Invasive Biomarkers for Diagnosis and Prognosis of Pancreatic Cancer. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. ISSN 2296-634X. 10:2022). doi: 10.3389/fcell.2022.845641.
- (106) LIU, Yawen *et al.* - Circulating lncRNA ABHD11-AS1 serves as a biomarker for early pancreatic cancer diagnosis. *Journal of Cancer*. ISSN 1837-9664. 10:16 (2019) 3746–3756. doi: 10.7150/jca.32052.
- (107) HUANG, Xiaoyi *et al.* - Microarray Analysis of the Expression Profile of Long Non-Coding RNAs Indicates lncRNA RP11-263F15.1 as a Biomarker for Diagnosis and Prognostic

- Prediction of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. **Journal of Cancer**. ISSN 1837-9664. 8:14 (2017) 2740–2755. doi: 10.7150/jca.18073.
- (108) WANG, Yingxue *et al.* - Expression profile of long non-coding RNAs in pancreatic cancer and their clinical significance as biomarkers. **Oncotarget**. ISSN 1949-2553. 6:34 (2015) 35684–35698. doi: 10.18632/oncotarget.5533.
- (109) PANG, Er-Jun *et al.* - Overexpression of long non-coding RNA MALAT1 is correlated with clinical progression and unfavorable prognosis in pancreatic cancer. **Tumor Biology**. ISSN 1010-4283. 36:4 (2015) 2403–2407. doi: 10.1007/s13277-014-2850-8.
- (110) QU, Shibin *et al.* - Downregulation of lncRNA-ATB correlates with clinical progression and unfavorable prognosis in pancreatic cancer. **Tumor Biology**. ISSN 1010-4283. 37:3 (2016) 3933–3938. doi: 10.1007/s13277-015-4252-y.
- (111) SUN, X. L. *et al.* - Association of lncRNA HMLincRNA717 with prognosis in pancreatic cancer. **European review for medical and pharmacological sciences**. ISSN 2284-0729. 20:11 (2016) 2230–4.
- (112) WU, Bin *et al.* - Novel three lncRNA signature predicts survival in patients with pancreatic cancer. **Oncology reports**. ISSN 1791-2431. 40:6 (2018) 3427–3437. doi: 10.3892/or.2018.6761.
- (113) ZHANG, Huo *et al.* - A Panel of 12-lncRNA Signature Predicts Survival of Pancreatic Adenocarcinoma. **Journal of Cancer**. ISSN 1837-9664. 10:6 (2019) 1550–1559. doi: 10.7150/jca.27823.
- (114) TONG, Hongxuan *et al.* - The benefits of modified FOLFIRINOX for advanced pancreatic cancer and its induced adverse events: a systematic review and meta-analysis. **Scientific Reports**. ISSN 2045-2322. 8:1 (2018) 8666. doi: 10.1038/s41598-018-26811-9.
- (115) XIONG, Xingcheng *et al.* - LINC00052 functions as a tumor suppressor through negatively modulating miR-330-3p in pancreatic cancer. **Journal of Cellular Physiology**. ISSN 0021-9541. 234:9 (2019) 15619–15626. doi: 10.1002/jcp.28209.
- (116) GAO, Zhi-Qiang *et al.* - Long non-coding RNA GAS5 antagonizes the chemoresistance of pancreatic cancer cells through down-regulation of miR-181c-5p. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. ISSN 07533322. 97:2018) 809–817. doi: 10.1016/j.biopha.2017.10.157.
- (117) ZHANG, Xiang *et al.* - Cancer-associated fibroblast-induced lncRNA UPK1A-AS1 confers platinum resistance in pancreatic cancer via efficient double-strand break repair. **Oncogene**. ISSN 0950-9232. 41:16 (2022) 2372–2389. doi: 10.1038/s41388-022-02253-6.

- (118) HUA, Yong-Qiang *et al.* - Long non-coding SBF2-ASI acting as a competing endogenous RNA to sponge microRNA-142-3p to participate in gemcitabine resistance in pancreatic cancer via upregulating TWFI. **Aging**. ISSN 1945-4589. 11:20 (2019) 8860–8878. doi: 10.18632/aging.102307.
- (119) XU, Fengyu *et al.* - LncRNA HIF1A-ASI Promotes Gemcitabine Resistance of Pancreatic Cancer by Enhancing Glycolysis through Modulating the AKT/YB1/HIF1 α Pathway. **Cancer Research**. ISSN 0008-5472. 81:22 (2021) 5678–5691. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-21-0281.
- (120) ZHOU, Cefan *et al.* - LncRNA PVT1 promotes gemcitabine resistance of pancreatic cancer via activating Wnt/ β -catenin and autophagy pathway through modulating the miR-619-5p/Pygo2 and miR-619-5p/ATG14 axes. **Molecular Cancer**. ISSN 1476-4598. 19:1 (2020) 118. doi: 10.1186/s12943-020-01237-y.
- (121) YIN, Feng *et al.* - LncRNA HOTTIP Participates in Cisplatin Resistance of Tumor Cells by Regulating miR-137 Expression in Pancreatic Cancer. **OncoTargets and Therapy**. ISSN 1178-6930. Volume 13:2020) 2689–2699. doi: 10.2147/OTT.S234924.
- (122) ZHOU, Ming *et al.* - Genomic analysis of drug resistant pancreatic cancer cell line by combining long non-coding RNA and mRNA expression profiling. **International journal of clinical and experimental pathology**. ISSN 1936-2625. 8:1 (2015) 38–52.
- (123) WU, Chunli *et al.* - Inhibition of long non-coding RNA HOTAIR enhances radiosensitivity via regulating autophagy in pancreatic cancer. **Cancer Management and Research**. ISSN 1179-1322. Volume 10:2018) 5261–5271. doi: 10.2147/CMAR.S174066.
- (124) JIANG, Yanhui *et al.* - The long non-coding RNA HOTAIR affects the radiosensitivity of pancreatic ductal adenocarcinoma by regulating the expression of Wnt inhibitory factor 1. **Tumour biology: the journal of the International Society for OncoDevelopmental Biology and Medicine**. ISSN 1423-0380. 37:3 (2016) 3957–67. doi: 10.1007/s13277-015-4234-0.
- (125) ANFOSSI, Simone *et al.* - Clinical utility of circulating non-coding RNAs - an update. **Nature reviews. Clinical oncology**. ISSN 1759-4782. 15:9 (2018) 541–563. doi: 10.1038/s41571-018-0035-x.
- (126) SHI, Ting; GAO, Ge; CAO, Yingli - Long Noncoding RNAs as Novel Biomarkers Have a Promising Future in Cancer Diagnostics. **Disease markers**. ISSN 1875-8630. 2016:2016) 9085195. doi: 10.1155/2016/9085195.

- (127) LOU, Ut Kei; WONG, Chi Hin; CHEN, Yangchao - A simple and rapid colorimetric detection of serum lncRNA biomarkers for diagnosis of pancreatic cancer. **RSC Advances**. ISSN 2046-2069. 10:14 (2020) 8087–8092. doi: 10.1039/C9RA07858D.
- (128) ZHANG, Xiaoli *et al.* - Suppressing lncRNA HOXA-AS3 by CRISPR-dCas9 inhibits pancreatic cancer development. **Journal of Cancer**. ISSN 1837-9664. 12:21 (2021) 6439–6444. doi: 10.7150/jca.62631.
- (129) FATHI DIZAJI, Behdokht - Strategies to target long non-coding RNAs in cancer treatment: progress and challenges. **Egyptian Journal of Medical Human Genetics**. ISSN 2090-2441. 21:1 (2020) 41. doi: 10.1186/s43042-020-00074-4.
- (130) LENNOX, Kim A.; BEHLKE, Mark A. - Cellular localization of long non-coding RNAs affects silencing by RNAi more than by antisense oligonucleotides. **Nucleic Acids Research**. ISSN 0305-1048. 44:2 (2016) 863–877. doi: 10.1093/nar/gkv1206.
- (131) MERCER, Tim R.; MUNRO, Trent; MATTICK, John S. - The potential of long noncoding RNA therapies. **Trends in Pharmacological Sciences**. ISSN 01656147. 43:4 (2022) 269–280. doi: 10.1016/j.tips.2022.01.008.
- (132) HAN, Shuo; CHEN, Xinru; HUANG, Leaf - The tumor therapeutic potential of long non-coding RNA delivery and targeting. **Acta Pharmaceutica Sinica B**. ISSN 22113835. 13:4 (2023) 1371–1382. doi: 10.1016/j.apsb.2022.12.005.