



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Joana Faria Filipe

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Ácidos gordos livres e disfunção endotelial no contexto da diabetes”, sob orientação do Dr. António Brás Marques e da Professora Doutora Sónia Alexandra Pinto Ribeiro da Silva Santos apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2021



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Joana Faria Filipe

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Ácidos gordos livres e disfunção endotelial no contexto da diabetes”, sob orientação do Dr. António Brás Marques e da Professora Doutora Sónia Alexandra Pinto Ribeiro da Silva Santos apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

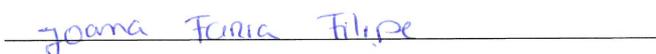
Setembro de 2021

Declaração de Honra

Eu, Joana Faria Filipe, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2015228020, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Ácidos gordos livres e disfunção endotelial no contexto da diabetes” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 15 de setembro de 2021.



Assinatura

(Joana Faria Filipe)

Agradecimentos

A realização do presente relatório de estágio e da monografia deve-se ao meu foco e dedicação, mas também a todas aquelas pessoas, sem as quais não seria possível conseguir alcançar os meus objetivos, que sempre demonstraram o seu apoio incondicional durante os cinco anos do curso. Agradeço:

Aos meus pais por me terem dado a oportunidade de seguir os meus sonhos e estarem presentes incondicionalmente em todas as etapas importantes do meu percurso académico. Obrigada por toda a compreensão, apoio, incentivo, paciência ao longo destes anos!

À minha irmã e ao meu irmão por todo o apoio prestado ao longo desta caminhada, por toda a boa disposição transmitida mesmo quando me sentia mais angustiada, pela paciência e ensinamentos, pelos momentos de riso.

Aos meus amigos, por estarem sempre presentes em todos os momentos importantes da minha vida, pelo apoio incondicional e amizade.

Ao grupo FFUCarro, por todos os momentos felizes, pelas partilhas, pela amizade que vivemos ao longo destes cinco anos.

À Eduarda e à Daniela pela amizade, pelos conselhos, pelos momentos de riso e choro vividos ao longo destes cinco anos, obrigada!

À minha orientadora Professora Doutora Sónia Santos pela ajuda e disponibilidade na realização da monografia.

A todos os professores da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra pelos conhecimentos que me transmitiram e ensinaram ao longo destes anos.

Ao Dr. António, ao Dr. Pedro, ao Dr. Fernando, à Dra. Silvana, à Tonicha, ao Sr. José e ao Rui por toda a amizade, o carinho com que me receberam na farmácia, por todos os ensinamentos e aprendizagens, pela paciência, por todos os bons momentos que me proporcionaram.

A todos muito obrigado!

Índice

Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Resumo	7
Abstract	8
Lista de Abreviaturas	9
Introdução	10
1. Farmácia Monteiro	11
2. Análise SWOT	12
2.1 Forças	13
2.1.1 Localização da Farmácia Monteiro	13
2.1.2 Variedade de Suplementos Alimentares e Produtos Fitoterápicos	13
2.1.3 Equipa Técnica da Farmácia Monteiro	14
2.1.4 Serviços Farmacêuticos prestados pela Farmácia Monteiro	15
2.1.5 Cadeira Estágio Curricular	15
2.2 Fraquezas	16
2.2.1 Inexperiência e Insegurança Iniciais no Atendimento ao Público	16
2.2.2 Ausência de Lineares na Retaguarda dos Balcões de Atendimento	17
2.2.3 Ausência de Preparação de Manipulados	17
2.3 Oportunidades	17
2.3.1 Formações	17
2.3.2 Consolidação dos Conhecimentos adquiridos ao longo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas	18
2.4 Ameaças	18
2.4.1 Grandes Superfícies na Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica	18
2.4.2 Medicamentos Esgotados	18
2.4.3 Receitas Manuais	19
3. Casos Clínicos	19
3.1 Caso Clínico A – Pediculose	19
3.2 Caso Clínico B – Prescrição médica de isotretinoína oral	20
3.3 Caso Clínico C – Congestão nasal e garganta irritada	20
3.4 Caso Clínico D – Prisão de ventre	21
3.5 Caso Clínico E – Alergia	21
Conclusão	22
Bibliografia	23

Parte II – Ácidos gordos livres e disfunção endotelial no contexto da diabetes

Resumo	25
Abstract	26
Lista de Abreviaturas	27
Introdução	28
1. Diabetes Mellitus	29
2. Endotélio Vascular	31
2.1 Distribuição, Estrutura e Principais Funções	31
3. Disfunção Endotelial na Diabetes	32

4. Ácidos Gordos Livres.....	33
5. Danos Vasculares induzidos pelo Ácido Palmítico e a intervenção do Fenofibrato.....	41
6. Efeitos Protetores de outros fármacos e compostos da Inflamação e Stress oxidativo na Disfunção Endotelial induzida por Ácidos Gordos Livres	43
7. Perspetivas futuras: via Nrf2/HO-1 como possível alvo na Disfunção Endotelial induzida pelos Ácidos Gordos Livres	44
Conclusão.....	45
Bibliografia	46

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária



Farmácia Monteiro

Resumo

Os farmacêuticos comunitários assumem um importante papel na sociedade, nomeadamente na promoção da saúde e no estado emocional dos utentes, sendo confidentes dos seus problemas, pois têm um contacto muito próximo com a população. Esta profissão vai muito para além da dispensa dos medicamentos, e cada vez se foca mais no doente ao invés do medicamento, preocupando-se sempre em proporcionar ao utente uma ótima qualidade de vida. O estágio em Farmácia Comunitária (FC) é por esta razão, muito importante para a aquisição de novos conhecimentos e também para colocar em prática todos aqueles que aprendi durante o Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF).

Assim, o presente relatório relata as experiências vividas ao longo do meu estágio na FC, nomeadamente as inúmeras tarefas que desempenhei, bem como uma análise SWOT dos pontos fortes, fracos, ameaças e oportunidades experienciadas durante o período de estágio. Para além disso, também contém alguns casos clínicos que tive a oportunidade de me deparar na Farmácia Monteiro (FM).

Palavras-chave: farmácia comunitária, suplementos alimentares, utentes.

Abstract

Community pharmacists play an important role in society, namely in promoting the health and emotional state of users, being confidants of their problems, as they have a very close contact with the population. This profession goes far beyond dispensing medication, and increasingly focuses on the patient rather than the medication, always concerned with providing the user with a great quality of life. The internship in Community Pharmacy (CF) is, for this reason, very important for the acquisition of new knowledge and also for putting into practice all those I learned during the Integrated Master in Pharmaceutical Sciences (MICF).

Thus, this report reports the experiences lived during my internship at FC, namely the numerous tasks I performed, as well as a SWOT analysis of the strengths, weaknesses, *threats* and opportunities experienced during the internship period. In addition, it also contains some clinical cases that I had the opportunity to come across at Farmácia Monteiro (FM).

Keywords: community pharmacy, food supplements, users.

Lista de Abreviaturas

DT - Diretor Técnico

EC - Estágio Curricular

FC - Farmácia Comunitária

FM - Farmácia Monteiro

MNSRM - Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

MSRM - Medicamento Sujeito a Receita Médica

PF - Produtos Fitoterápicos

SA - Suplementos Alimentares

SWOT - (*Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats*) - Forças, Fraquezas, Oportunidades, Ameaças

Introdução

Nós farmacêuticos, enquanto especialistas do medicamento, somos responsáveis por desempenhar um papel crucial no bem-estar e no cuidado da população em geral. É muito importante, no atendimento ao público, o papel do farmacêutico no ato da indicação farmacêutica, pois permite através de uma comunicação adequada com o utente, a recolha do máximo de informação acerca das suas queixas, sintomas, duração dos sintomas, permitindo-lhe um melhor aconselhamento. É esta proximidade com o utente, que faz com que a Farmácia Comunitária (FC), seja muitas vezes, o primeiro local ao qual o utente recorre para pedir ajuda na utilização correta da medicação, na revisão da terapêutica e no tratamento dos seus problemas de saúde.

Ao longo destes 5 anos, durante o Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) tive a oportunidade de ter uma formação multidisciplinar, na qual me foi possível adquirir conhecimentos e competências para o exercício desta profissão, tendo a oportunidade de os consolidar e colocar em prática durante o meu Estágio Curricular (EC) em FC. Este decorreu na Farmácia Monteiro (FM), em Esposende, sob orientação do Diretor Técnico (DT) Dr. António Brás Marques, durante o período de 11 de janeiro a 4 de junho de 2021.

O EC em FC é um enorme desafio para os estudantes, uma vez que é o primeiro contacto com os utentes, e em que colocam em prática os conhecimentos e aprendizagens que adquiriram durante o curso, tornando-os futuros farmacêuticos autónomos, competentes e responsáveis.

Neste EC na FM desempenhei várias tarefas nomeadamente, conferência do receituário, receção de encomendas, atendimento ao público, controlo de prazos de validade, medição de parâmetros fisiológicos e bioquímicos, gestão e regularização de devoluções, gestão das redes sociais.

Assim, o presente relatório tem como objetivo uma descrição breve da FM e uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), analisando os pontos fracos e fortes, bem como as oportunidades e ameaças, que presenciei durante estes meses na FC. Adicionalmente, são relatados casos clínicos com os quais me deparei durante o atendimento ao público, e que me ajudaram a adquirir mais competências para o futuro da minha profissão.

I. Farmácia Monteiro

A FM encontra-se privilegiadamente localizada no centro de Esposende, na Rua 1º de Dezembro n.º64, no distrito de Braga. O horário de funcionamento semanal é das 9h às 13h e das 14h30 às 19h30, à exceção dos sábados, cujo horário é das 09h às 13h, estando aos domingos encerrada. Para além deste horário, a FM encontra-se em serviço permanente, de 15 em 15 dias, estando nessa semana de serviço a funcionar 24h todos os dias, alternando com a outra farmácia localizada em Esposende.

A FM é constituída por uma equipa bastante dinâmica e competente, de forma a prestar os melhores cuidados e serviços aos seus utentes, sendo constituída pelo DT, Dr. António Brás Marques, pelos farmacêuticos Dr. Pedro Brás Marques, Dr. Fernando Costa, Dra. Silvana Cruz e pelos técnicos de farmácia Sr.ª Antónia Laranjeira, Sr. José Machado, Sr. Rui Cambra.

A farmácia dispõe de 5 zonas distintas, sendo a primeira zona o local de atendimento ao público, bastante luminoso e amplo, constituído por cinco balcões de atendimento separados entre si por lineares, promovendo um atendimento mais individualizado, e dando uma maior segurança e privacidade ao utente. Nestes lineares estão expostos como estratégia de marketing vários produtos, nomeadamente dermocosméticos, solares, máscaras cirúrgicas havendo uma rotação destes, o que permite aos utentes conhecer os diferentes produtos sazonais, e outros que a farmácia tem ao dispor, tornando a venda mais fácil.

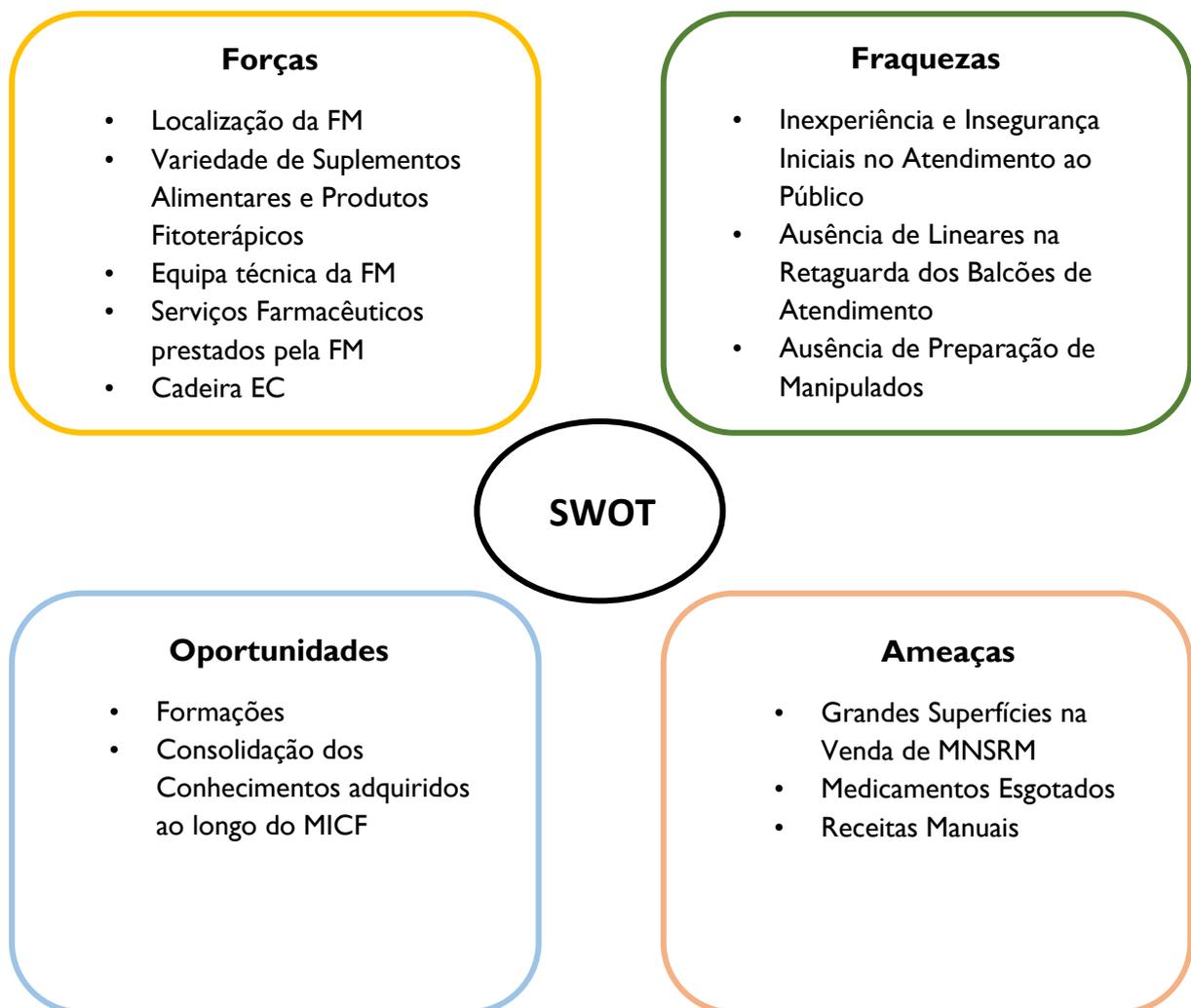
Em seguida, na zona de armazenamento, estão guardados em gavetas deslizantes, e por ordem alfabética os Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM), o que facilita o atendimento ao público. As cápsulas e comprimidos estão separados em medicamentos genéricos e de marca comercial, estando os descongestionantes nasais, reguladores hormonais, carteiras, soluções orais, supositórios, pomadas, auditivos, xaropes, ampolas, emplastros, organizados conforme a forma farmacêutica ou o seu uso, também por ordem alfabética. Os excessos dos MSRM e Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM) são guardados em armários, numa segunda zona de armazenamento. Há ainda, um armário específico para os medicamentos destinados ao uso veterinário, e um frigorífico onde estão os produtos que necessitam de uma temperatura controlada, entre 2°C e 8°C.

Para além desta zona de armazenamento, a farmácia ainda é constituída por uma zona de atendimento privado, onde tem lugar o atendimento personalizado de modo a que o utente se sinta mais seguro e confortável para confidenciar os seus problemas. Este local também é utilizado para a administração de injetáveis, medição de parâmetros bioquímicos (glicémia, colesterol, triglicéridos) e fisiológicos, para consultas de nutrição, audição e rastreios que se realizam pontualmente.

A zona de *backoffice* é o local que envolve toda a logística, desde a receção e envio de encomendas, à marcação de preços, conferência de receituário, devolução de produtos e a sua conferência. Nesta zona é também realizada a reconstituição das fórmulas orais líquidas. Por último, existe uma zona reservada para os assuntos burocráticos da farmácia.

2. Análise SWOT

A análise SWOT que apresento em seguida é uma análise dos pontos fortes, fracos, oportunidades e ameaças, que pode ser realizada tanto a nível interno (Forças e Fraquezas) como externo (Oportunidades e Ameaças), com as quais me deparei durante o período de EC. Esta permite avaliar, identificar os pontos fortes e fracos que constituíram vantagens ou desvantagens durante o meu estágio, mas também a nível interno as oportunidades e ameaças nas quais a farmácia não tem controlo, mas que não devem ser desvalorizadas, e sim monitorizadas constantemente para haver um delineamento estratégico, de forma a minimizar os erros.



Quadro I - Resumo dos pontos mencionados na análise SWOT.

2.1 Forças

2.1.1 Localização da Farmácia Monteiro

A FM localiza-se no centro de Esposende, sendo este um local privilegiado, existindo nas proximidades inúmeros estabelecimentos, nomeadamente, cafés, restaurantes, supermercados, dentista, centro de saúde, hospital e a igreja matriz de Esposende, o que permite que haja uma grande afluência de utentes. Esta cidade como é turística, acolhe cada vez mais pessoas de diferentes nacionalidades, o que é uma mais-valia para a farmácia, pois dirigem-se muitas vezes a esta com a finalidade de comprarem produtos de venda livre e produtos de dermocosmética. Também devido ao facto de ser bastante antiga e ao ambiente familiar que lhe é característico, a FM tem inúmeros utentes fidelizados, alguns deles com ficha de cliente, o que facilita muito o trabalho do farmacêutico, pois consegue ter acesso ao histórico dos utentes, e desta forma prestar um acompanhamento individual e contínuo. Grande parte destes são doentes polimedicados com prescrição de medicamentos para a pressão arterial, diabetes, tiroide, colesterol, protetores gástricos, sendo por isso muito importante a forte ligação de confiança e uma boa comunicação entre a equipa da farmácia e o utente.

Assim, é facilitada a identificação de possíveis erros na medicação, uma avaliação da adesão à terapêutica e um aconselhamento de produtos que se considerem importantes e complementem a terapêutica dos utentes. A deslocação à farmácia de várias pessoas diferentes, ou seja, polimedicadas, com transtornos menores como constipação, transtornos digestivos, alergias, a procura pelos dermocosméticos, produtos fitoterápicos, produtos de puericultura fez com que durante o meu estágio, adquirisse novos conhecimentos e consolidasse muitos dos que aprendi durante o curso, contribuindo desta forma para um bom aconselhamento farmacêutico.

2.1.2 Variedade de Suplementos Alimentares e Produtos Fitoterápicos

Os Suplementos Alimentares (SA) são “géneros alimentícios que se destinam a complementar e / ou suplementar o regime alimentar normal, e que constituem fontes concentradas de determinadas substâncias, nutrientes ou outras com efeito nutricional ou fisiológico, estemes ou combinadas, comercializadas em forma doseada (...), que se destinam a ser tomadas em unidades medidas de quantidades reduzidas”(Decreto-Lei 118/2015, 2015-06-23 - DRE, [s.d.]). Durante o meu estágio na FM deparei-me com vários utentes a procurarem estes suplementos, no sentido de os ajudar a complementar o seu regime alimentar, mas também para situações de fadiga, sono, pirose, dor abdominal, diarreia. Com o

intuito de fortalecer o sistema imunitário aconselhei suplementos à base de vitamina C e equinácea, e para evitar a recorrência de infeções urinárias sugeri SA à base de arando vermelho.

Sem dúvida, que a FM tendo esta vasta gama de SA e Produtos Fitoterápicos (PF) é uma vantagem enorme, dada a quantidade de indivíduos que se dirigem a este local com esse intuito. Muitos dos utentes deslocam-se à farmácia com prescrições de antibióticos, e no momento da sua cedência alertei para o facto de destabilizarem a flora intestinal, e de forma a prevenir essa situação aconselhei a toma de probióticos para ajudar a restabelecê-la. Assim como, em casos de prescrição de fosfomicina ou outros antibióticos para o tratamento de infeções urinárias, tinha sempre o cuidado de questionar a pessoa se era recorrente, alertando-a para o facto de existirem SA que auxiliam na prevenção de reincidências das infeções urinárias. E assim, com a variedade de SA existentes na FM foi possível realizar um *cross-selling*, tendo a certeza de que o utente ficava satisfeito com o atendimento, permitindo aumentar as vendas para a farmácia. Para além disso, tive sempre em atenção na cedência destes SA e PF, questionar sempre a pessoa acerca da sua idade, patologias, comorbilidades, pois muitas delas chegavam à farmácia e pediam um produto natural e achavam que por ser natural não haveria problema nenhum em tomar. Ao deparar-me com estas situações, alertei os utentes para o facto de muitos destes PF terem interações medicamentosas e com alimentos, daí a importância da pessoa referir sempre o seu histórico clínico.

2.1.3 Equipa Técnica da Farmácia Monteiro

A equipa técnica da FM é sem dúvida uma equipa dinâmica, coesa e que tem como principal objetivo o bem-estar dos seus utentes. A minha integração nesta equipa foi bastante fácil, tendo sido acolhida com muita simpatia, profissionalismo, e para além disso prestaram-me todo o apoio necessário. Considero que foi um ponto bastante forte ao longo do meu estágio, tendo-me auxiliado desde a receção de encomendas, na explicação da faturação e todos os procedimentos inerentes a esta, até ao atendimento ao público, deixando sempre o à vontade para tirar quaisquer dúvidas, quer a nível logístico quer a nível do aconselhamento farmacêutico. Sem dúvida que contribuíram para o enriquecimento dos meus conhecimentos, os quais serão muito importantes para o futuro da minha profissão, bem como a confiança e a amizade que me transmitiram.

2.1.4 Serviços Farmacêuticos prestados pela Farmácia Monteiro

Os serviços farmacêuticos prestados pela FM têm como objetivo responder às necessidades e zelar pelo bem-estar dos utentes, permitindo a determinação de parâmetros fisiológicos e bioquímicos, como a medição da pressão arterial, peso, altura, glicémia, colesterol total, triglicéridos, consultas de nutrição. Durante o período do estágio tive a oportunidade de realizar rastreio ao colesterol, tendo considerado uma mais-valia, uma vez que não fazia ideia como se efetuava. Neste rastreio, tive o cuidado de questionar os utentes sobre o seu estilo de vida, se tomavam ou não alguma medicação para o colesterol, aconselhando medidas não farmacológicas, como privilegiar os legumes, frutas, evitar o consumo de gorduras saturadas, carnes vermelhas de uma forma geral, incentivar a prática de exercício físico como caminhadas durante cerca de 30 minutos.

Considero também, que foi muito importante para a minha aprendizagem e aplicação na prática dos conhecimentos adquiridos ao longo do curso do MICEF, a minha intervenção na avaliação dos parâmetros obtidos, nomeadamente de medição da pressão arterial, tendo sempre em atenção ao histórico clínico do utente, ao estilo de vida e a sua adesão à terapêutica. Procurei focar no aconselhamento de medidas não farmacológicas, uma vez que são úteis para controlar a patologia em causa. Houve um caso de um senhor, com os seus 65 anos, que solicitou a minha ajuda para medir a pressão arterial, tendo-lhe pedido para descansar um pouco antes da realização da mesma. Após a pausa de alguns minutos, procedi à medição, tendo obtido valores bastante elevados (10/182), o que deixou o senhor muito assustado e ao mesmo tempo surpreendido, pois estava a “sentir-se normal”. Expliquei-lhe que a hipertensão arterial é uma doença silenciosa, e por isso é muito importante que estejamos sempre em alerta e controlemos estes valores, de forma a prevenir o aparecimento de doenças cardiovasculares. Aconselhei medidas não farmacológicas a adotar, como uma alimentação saudável, reduzir o consumo excessivo de sal e café, incentivei a prática de exercício físico e aconselhei-o a dirigir-se ao médico com a sua esposa, que também estava presente, pois os seus valores de pressão arterial estavam bastante elevados.

2.1.5 Cadeira Estágio Curricular

O plano de estágio em FC é muito organizado, tendo sempre a preocupação pela satisfação das necessidades do estagiário e as adaptações à FC, sendo muito importante para a minha aprendizagem e consolidação dos conhecimentos adquiridos ao longo do MICEF.

No decorrer do meu estágio, tive a oportunidade de desempenhar múltiplas tarefas, nomeadamente, receção e gestão de encomendas, tendo contribuído bastante para a

familiarização dos medicamentos existentes, bem como as formas farmacêuticas, nomes comerciais, e os demais produtos existentes na farmácia como SA, PF, dermocosmética. Esta tarefa de *backoffice* contribuiu para um atendimento mais agilizado, uma vez que ao rececionar as encomendas e ao arrumar os medicamentos nos respetivos locais de armazenamento, facilitou bastante a sua localização aquando do atendimento. Também obtive conhecimentos acerca de gestão de *stock* e o controlo de prazos de validade, tendo ainda uma maior noção de como a farmácia estava organizada internamente. Para além destas funções, tive a oportunidade de conferir o receituário, isto é, validar as receitas médicas, realizar devoluções, auxiliar na organização dos lineares, marcação de preços e o atendimento ao público, que foi a tarefa que mais desempenhei e me acrescentou mais conhecimentos para um bom aconselhamento farmacêutico. A equipa técnica foi excepcional, ajudando-me com a logística do Sifarma 2000[®] nos primeiros atendimentos, e a possibilidade de assistir a estes ao lado dos elementos da equipa da farmácia, permitiu-me perceber como era realizada a cedência de medicamentos e auxiliar-me no tipo de questões a colocar ao utente. Para além disso, explicaram-me como aceder à ficha do utente quando estes se dirigiam à farmácia com prescrições médicas, e desta forma ao aceder ao seu histórico, avaliar se existe algum erro de prescrição, se houve alguma alteração da medicação e se sim, tentar perceber com o utente o porquê dessa alteração. Todas estas aprendizagens contínuas permitiram a aquisição de conhecimentos cada vez mais consolidados, contribuindo para um bom atendimento e sucesso durante o período de estágio.

2.2 Fraquezas

2.2.1 Inexperiência e Insegurança Iniciais no Atendimento ao Público

No início do meu estágio na FM, nos primeiros atendimentos autónomos ao balcão, o medo de errar, a demora na realização do atendimento, a existência de utentes cada vez mais preocupados com a sua saúde constituíram obstáculos a ultrapassar. A falta de prática inicial, quer a nível do Sifarma 2000[®], quer no aconselhamento farmacêutico, o facto de querer tentar logo no início fazer tudo em simultâneo, isto é, no menor tempo possível e com a máxima informação, acabava por me deixar stressada e, muita das vezes, nem conseguia transmitir toda a informação necessária. Contudo, com a ajuda da equipa técnica facilmente consegui superar estes obstáculos, e passei a “encarar” cada atendimento como uma aprendizagem e uma consolidação dos conhecimentos adquiridos no MICEF, focando-me cada vez mais no utente e tornando-me cada vez mais autónoma no aconselhamento farmacêutico.

2.2.2 Ausência de Lineares na Retaguarda dos Balcões de Atendimento

A FM não possui lineares na retaguarda dos balcões de atendimento, o que constitui no meu ponto de vista uma desvantagem na venda de MNSRM, uma vez que o utente quando está em frente ao balcão tem tendência a observar tudo que o rodeia, e por conseguinte poderia solicitar o MNSRM apenas pela sua observação. Muitas vezes até, em caso de esquecimento do nome comercial, ou para esclarecer dúvidas acerca de alguns MNSRM que “viram na televisão” ao observá-lo seria mais fácil indicar qual o medicamento pretendido.

Assim, a inexistência destes lineares na retaguarda, que possibilitariam uma maior exposição e variedade de MNSRM, torna mais difícil a compra por impulso.

2.2.3 Ausência de Preparação de Manipulados

A preparação de medicamentos manipulados na FM é inexistente, uma vez que cada vez mais, estes vão ocupando uma fração residual nas farmácias comunitárias, sendo habitualmente solicitados à Farmácia dos Clérigos ou à Farmácia Brás Marques. Apesar de me ter dirigido à Farmácia Brás Marques para realizar a preparação de um manipulado, que consistia na mistura de creme ATL[®] com o creme Elocom[®], considero ter sido um ponto fraco. Isto porque, na minha opinião é uma tarefa de enorme prestígio para a profissão farmacêutica e gostaria de ter aplicado mais os conhecimentos adquiridos em Farmácia Galénica.

2.3 Oportunidades

2.3.1 Formações

O farmacêutico de forma a prestar o melhor aconselhamento aos seus utentes necessita de estar em constante formação, assegurando desta forma um serviço personalizado e de qualidade a cada utente.

Ao longo do meu estágio na FM tive a oportunidade de assistir a formações *online*, nomeadamente, acerca do Canesten[®], Ginocanesten[®], Bephantene[®] gotas oftálmicas, Claritine[®] mas também a formações presenciais, nomeadamente da Tilman[®] e das marcas de cosmética Dr. Grandel[®] e Uriage[®].

Estas formações foram muito importantes e uma mais-valia para mim no aconselhamento farmacêutico, visto que adquiri conhecimentos de uma maior variedade de produtos e desta forma, pude realizar um bom aconselhamento farmacêutico. Também assisti a formações do Saber⁺, e do programa FIT[®] da Escola de Pós-Graduação em Saúde e Gestão, de forma a consolidar os meus conhecimentos e a adquirir outros novos, permitindo disponibilizar ao

utente um melhor serviço, com mais qualidade, mais informação e desta forma prestar um atendimento personalizado.

2.3.2 Consolidação dos Conhecimentos adquiridos ao longo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Durante os 5 anos do MICF, fui adquirindo conhecimentos técnico-científicos de diversos fármacos, assim como dos grupos farmacológicos a que estes pertenciam. Mas, dada a elevada quantidade de moléculas existentes, e por consequência a enorme variedade de nomes comerciais dos medicamentos, muitas das vezes não era fácil associar a molécula ou princípio ativo ao nome comercial do medicamento. Assim, o estágio na FM permitiu-me, sem dúvida, de uma forma mais consolidada, associar os nomes comerciais aos respetivos princípios ativos ou grupos farmacológicos e desta forma, prestar um rápido e melhor atendimento ao utente, uma vez que na maioria das vezes, este dirigia-se à farmácia pedindo os medicamentos pelo seu nome comercial.

2.4 Ameaças

2.4.1 Grandes Superfícies na Venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

Cada vez existem mais locais de venda de MNSRM, o que constitui uma ameaça às farmácias, e isso foi possível presenciar no decorrer do meu estágio, onde existiram casos de utentes em que não consegui vender determinados produtos, por se encontrarem noutros locais a um preço inferior. Apesar disso, o conhecimento técnico-científico que possuímos e a segurança com que aconselhamos cada medicamento, conduz a que muitos utentes ainda continuem a comprar esses MNSRM na farmácia, mesmo a preços mais elevados.

2.4.2 Medicamentos Esgotados

Ao longo do meu estágio, deparei-me com algumas situações em que os medicamentos se encontravam esgotados, sendo um motivo de descontentamento por parte dos utentes, o que condicionou algumas vendas. Exemplo disso foi o Bromalex[®], cujo princípio ativo é o bromazepam 3 mg com 40 comprimidos, uma benzodiazepina que atua ao nível do sistema nervoso central, que esteve esgotado no mercado durante algumas semanas. Assim, quando surgiam utentes com a sua prescrição, tentava explicar quais as alternativas existentes, como o caso do Lexotan[®], outro medicamento de marca mas com a mesma substância ativa. Houve um caso de uma senhora com uma prescrição médica de bromazepam 3 mg caixa de 40

comprimidos, que tive de explicar que existia a alternativa de optar pelo Lexotan[®], mas como na prescrição a caixa de Bromalex[®] 3 mg era de 40 comprimidos e a de Lexotan[®] 3 mg era de 60 comprimidos, não poderia ser eu enquanto farmacêutica a alterar a marca, uma vez que a quantidade de comprimidos era superior. Expliquei toda a situação à utente que se mostrou descontente mas compreensiva, e aconselhei-a a contactar o médico para alterar a prescrição.

2.4.3 Receitas Manuais

As receitas manuais são prescritas quando no sistema informático existe uma falência, o volume de prescrição é inferior ou igual a 40 receitas por mês, a prescrição se realiza no domicílio ou existe uma inadaptação do prescriptor devidamente justificada (*Portaria 224/2015, 2015-07-27 - DRE, [s.d.]*).

No atendimento ao balcão, devemos estar sempre atentos quando somos confrontados com estas receitas, pois existe uma série de pontos que temos de verificar para que esta se encontre válida, nomeadamente, o preenchimento do nome do utente, o número de beneficiário, a validade da receita, a assinatura do prescriptor, as vinhetas e à exceção legal assinalada. Caso não seja verificada a presença de algum destes pontos mencionados, a receita tem de ser rejeitada, o que conduz a um descontentamento do utente.

Nestas receitas a minha maior dificuldade foi em perceber a caligrafia do médico prescriptor relativamente ao nome comercial de alguns medicamentos, bem como a posologia, tendo muitas vezes que questionar os meus colegas para ter a certeza que cedia os medicamentos corretos. Tudo isto, exige uma enorme responsabilidade por parte do farmacêutico, e muitas vezes o trabalho da equipa em descodificar a caligrafia do prescriptor, de forma a que seja dispensado o medicamento certo e na dose certa.

3. Casos Clínicos

Em seguida, apresento alguns casos clínicos com que me deparei na farmácia, e com os quais aprendi e tive a oportunidade de colocar em prática os conhecimentos adquiridos durante os 5 anos de MICF.

3.1 Caso Clínico A – Pediculose

Um senhor dirige-se à farmácia e pede algum produto para o filho de 9 anos que tem piolhos. Em seguida, faço-lhe algumas perguntas, nomeadamente há quanto tempo o filho tem piolhos, se ele é o único elemento na família com piolhos, se é a primeira vez que tem, e se já utilizou algum produto para tratar este problema. O senhor refere que o filho começou “a

coçar a cabeça há 5 dias”, que até ao momento ninguém mais na família se queixou de “*comichão*” e é a primeira vez que esta situação lhe acontece, acrescentando que “*não meteu nada*” para tratar os piolhos.

Depois de toda esta conversa e tentar perceber qual o melhor aconselhamento a prestar ao utente, procedi à cedência de um antiparasitário questionando o senhor se preferia champô, loção ou *spray*, ao que me respondeu champô, e neste caso cedi-lhe o champô Paranix® Extra Forte que continha no seu interior um pente antiplolhos. Procedi à explicação de como utilizar corretamente o champô e o pente, devendo pentear com o pente antiplolhos o cabelo seco, em seguida aplicar o champô em todo o couro cabeludo, tendo sempre cuidado com os olhos. Lavar com água massajando o cabelo e por fim voltar a utilizar o pente no cabelo húmido para remover as lêndeas e piolhos (*Como utilizar - Paranix, [s.d.]*).

Referi também que o tratamento deverá ser repetido passado cerca de sete ou dez dias, dado este ser o tempo que uma lêndea necessita para nascer. Expliquei ao senhor que o que acontece é que na primeira aplicação do champô este mata na maioria piolhos jovens e adultos, enquanto na segunda aplicação já consegue ser efetivo em piolhos, que durante este período de pausa entre a primeira e segunda aplicação, “saíram” das lêndeas (*Piolhos | SNS24, [s.d.]*).

Para além disso, também sugeri trocar e lavar todo o vestuário e roupa de cama, pois poderiam estar contaminados, higienizar e aspirar a casa, não partilharem almofadas, chapéus, gorros, e outros objetos de uso pessoal que possam estar infetados.

3.2 Caso Clínico B – Prescrição médica de isotretinoína oral

Um rapaz, com cerca de 19 anos, dirige-se à farmácia com uma prescrição médica de isotretinoína oral. Sugiro-lhe, após a cedência do medicamento, um bom creme hidratante, um batom hidratante, lágrimas artificiais uma vez que a isotretinoína provoca uma secura geral da pele, olhos e dos lábios. Adicionalmente, aconselho-o a evitar exposições prolongadas ao sol, os solários se for o caso e sugiro-lhe a utilização diária de um protetor solar com proteção elevada (fator de proteção solar 50).

3.3 Caso Clínico C – Congestão nasal e garganta irritada

Uma senhora com cerca de 40 anos, dirige-se à farmácia referindo que tem o nariz congestionado e a garganta irritada, e por isso quer “*alguma coisa que me alivie*”.

Depois de ouvir a utente, questiono-lhe há quanto tempo está com esses sintomas, se já chegou a tomar algum medicamento para tratar o problema e se tem dor na garganta ao engolir. Ao que ela responde “*estou assim desde ontem de manhã, sinto dor ao engolir e ainda*

não tomei nada”. Posto isto, cedo-lhe para a congestão nasal um *spray* à base de eucalipto, o Eucaly plus[®], que tem como função limpar e remover as mucosidades excessivas, assim como promover a hidratação da mucosa, e expliquei-lhe a posologia prescrita, bem como o modo de aplicar. Para além disso, para a garganta irritada aconselhei a toma de pastilhas, nomeadamente Thymotabs[®] com efeito anti-inflamatório, antisséptico e imunoestimulante.

3.4 Caso Clínico D – Prisão de ventre

Um senhor com cerca de 50 anos, dirige-se à farmácia queixando-se que “*não consigo fazer a minha vida há 4 dias*” solicitando um medicamento que o ajudasse a “*tratar já esta situação*”. Após ouvir o senhor dirigi-lhe algumas questões, nomeadamente, se para além de estar obstipado tem outros sintomas, se é recorrente esta obstipação, toma algum medicamento, qual o estilo de vida que adota. O senhor respondeu que “*não tenho mais nenhum sintoma, é uma situação recorrente e costumo ter uma alimentação descuidada*”, acrescentando que “*não tomo medicação nenhuma*”.

Comecei por sugerir, uma vez que é uma situação recorrente, a toma de um laxante osmótico de acordo com a posologia recomendada, o xarope Dulcosoft[®], cujo princípio ativo é o macrogol 4000 que tem como função aumentar a fluidez das fezes, tendo a vantagem de não causar habituação. Mas uma vez que estes medicamentos têm um período de latência 2-3 dias e o senhor quer algo que atue rapidamente, aconselho também um laxante de contacto para tomar naquele dia à noite, o Dulcolax[®] cujo princípio ativo é o bisacodilo. Para além disso, alerto o senhor para o facto de o Dulcosoft[®] provocar alguma flatulência, assim como o Dulcolax[®] poderá provocar cólicas. Procurei também que o utente adotasse um estilo de vida mais saudável, aconselhando-o uma dieta rica em fibras nomeadamente, fruta com casca como kiwi, laranja, o consumo de legumes, a ingestão de muitos líquidos. Também sugeri que começasse a reeducar o seu intestino, isto é tentar “*fazer as necessidades sem pressa e à mesma hora*” de uma forma descontraída, normalmente após o pequeno-almoço e que realizasse umas massagens abdominais antes de evacuar.

3.5 Caso Clínico E – Alergia

Rapariga jovem dirige-se à farmácia e afirma que adotou um gato, há cerca de 3 semanas, e que tem tido muitos episódios de “*comichão nos olhos e espirros*”, questionando-me se pode ser alérgica ao pêlo do gato e solicitando conselhos para a melhoria dos sintomas. Refere ainda que por vezes sente também “*comichão na pele*”. Após ouvir a jovem aconselho-a a marcar uma consulta médica de forma a confirmar a alergia. Entretanto para aliviar os sintomas,

enquanto aguarda pela consulta, cedo-lhe um anti-histamínico para tomar 1 comprimido vez por dia à noite, para o alívio do prurido na pele aconselho uma pomada contendo na sua composição um anti-histamínico, como por exemplo o Fenistil® para aplicar sempre que necessitar. Para além disso, no alívio da comichão nos olhos aconselho a utilização do colírio Allergodil®, alertando-a que caso utilize lentes de contacto estas devem ser removidas antes da sua aplicação e que o colírio tem um prazo após abertura de 30 dias. Como medidas não farmacológicas sugiro que aspire a casa frequentemente, abra as janelas, aumente a frequência de limpeza dos espaços frequentados pelo animal.

Conclusão

O estágio em FC marca o fim do culminar dos 5 anos do MICEF, onde tive a oportunidade de ter uma formação teórica como prática, bem como a possibilidade de colocar em prática na FM os conhecimentos técnico-científicos que me foram transmitidos ao longo do curso. Também me permitiu crescer a nível pessoal uma vez que, no atendimento ao público, o facto de lidar com diferentes pessoas, perceber e tentar ajudar a realizar um bom aconselhamento, tornou-me uma pessoa mais autónoma e responsável. Para além disso, tive mais noção da realidade e da importância do farmacêutico comunitário, e como muitos dos utentes “veem” os farmacêuticos como alguém que os ajuda nos seus problemas, não só de saúde mas também muitas das vezes assume o papel de “psicólogo”, isto porque o utente sente confiança para desabafar os seus problemas. O facto de estar em contacto diário com a população implicou que estivesse constantemente a atualizar conhecimentos com o objetivo de prestar o melhor aconselhamento farmacêutico.

No decorrer do meu estágio também tive a oportunidade de adquirir mais conhecimentos nas áreas de dermocosmética e ortopedia, dada a quantidade de produtos existentes na FM, tornando-me uma pessoa mais capacitada para aconselhar nestas áreas.

Com a ajuda de todos os colaboradores da FM termino o meu estágio com a sensação de que realizei um bom trabalho e com as ferramentas necessárias para prestar um bom aconselhamento farmacêutico. Ao longo destes meses, sem dúvida, que me tornei uma pessoa com mais confiança no atendimento ao público, mais autónoma, responsável, mais crítica no sentido positivo, e adquiri os conhecimentos necessários para o futuro desafiante da profissão: ser farmacêutica.

Bibliografia

Como utilizar - Paranix - [Consult. 8 mai. 2021]. Disponível na Internet:
<https://www.paranix.eu/pt/product/paranix-extra-forte-champ%C3%B4-de-tratamento/como-eliminar-piolhos-com--paranix-extra-forte-champ---de-tratamento>

Piolhos | SNS24 - [Consult. 7 mai. 2021]. Disponível na Internet:
<https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-da-pele/piolhos/>

PORTARIA n. ° 224/2015. **D.R. Série I 144/2015.** (2015-07-27)

DECRETO-LEI n.º 118/2015. **D.R. Série I.** (2015-06/23)

Parte II

Monografia

“Ácidos Gordos Livres e Disfunção Endotelial no Contexto da Diabetes”

Resumo

A Diabetes Mellitus (DM) é cada vez mais um problema de saúde pública, verificando-se em todo o mundo que a sua prevalência e incidência estão a aumentar rapidamente. Em indivíduos obesos e com DM Tipo 2 (DMT2) os ácidos gordos livres (AGL) encontram-se em elevados níveis no plasma contribuindo para os processos de aterosclerose (AT) e doenças cardiovasculares (DCV). A disfunção endotelial (DE) é responsável pelos fatores de risco das DCV e é o fator chave para a patogénese da AT.

Os AGL assumem funções importantes como a regulação da homeostasia, ativando uma família de recetores acoplados à proteína G (*G protein-coupled receptor*, GPCRs) denominados recetores de ácidos gordos livres (*free fatty acid receptor*, FFARs). Os FFARs são potenciais alvos terapêuticos nos distúrbios metabólicos e doenças do sistema imunológico.

A DE mediada pelos AGL envolve inúmeros mecanismos como ativação do sistema renina-angiotensina, interrupção da libertação de NO (*Nitric Oxide*) mediada pela sinalização de cálcio, stress oxidativo e processos inflamatórios, regulação negativa da via AMPK / PI3K / Akt / eNOS e apoptose das células endoteliais (CE). No entanto, os AGL, mais concretamente o ácido palmítico (AP), têm sido utilizados para contornar algumas limitações farmacocinéticas, nomeadamente de fármacos antidiabéticos como os agonistas do recetor do *Glucagon-like Peptide 1 (GLP-1)* associando o peptídeo ao AP de forma a aumentar o tempo de semi-vida, sendo questionável a relação custo-benefício desta associação. Na DE induzida por AGL tem-se explorado alguns fármacos, originalmente com outras indicações terapêuticas, mas que se mostram promissores em estudos pré-clínicos, tais como o fenofibrato, capaz de restaurar a vasodilatação dependente do endotélio através da diminuição do stress oxidativo e pelo aumento da fosforilação de eNOS. Outros compostos como a quercetina, o butirato, o Tongxinluo e o Danshensu têm efeito protetor no stress oxidativo e na inflamação na DE induzida por AGL.

A via Nrf2 / HO-1 é uma possível via alvo para inibir a DE induzida por AGL através da modulação de processos inflamatórios.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus, Disfunção Endotelial, Ácidos Gordos Livres.

Abstract

Diabetes Mellitus (DM) is increasingly a public health problem, with its prevalence and incidence increasing rapidly around the world. In obese individuals and with Type 2 DM (DMT2), free fatty acids (FFA) are found in high levels in the plasma, contributing to the processes of atherosclerosis (AT) and cardiovascular diseases (CVD). Endothelial dysfunction (ED) is responsible for CVD risk factors and is the key factor in the pathogenesis of AT.

FFAs play important roles in regulating homeostasis, activating a family of G protein-coupled receptors (G protein-coupled receptors, GPCRs) called free fatty acid receptors (FFARs). FFARs are potential therapeutic targets in metabolic disorders and diseases of the immune system.

FFA-mediated ED involves numerous mechanisms such as activation of the renin-angiotensin system, interruption of NO (Nitric Oxide) release mediated by calcium signaling, oxidative stress and inflammatory processes, negative regulation of the AMPK / PI3K / Akt / eNOS pathway and apoptosis of endothelial cells (EC). However, FFA, specifically palmitic acid (PA), have been used to circumvent some pharmacokinetic limitations, namely of antidiabetic drugs such as Glucagon-like Peptide I (GLP-I) receptor agonists, associating the peptide with palmitic acid (AP) in order to increase the half-life, and the cost-effectiveness of this association is questionable. In Endothelial dysfunction induced by AGL, some drugs have been explored, originally with other therapeutic indications, but which show promise in studies preclinical drugs, such as fenofibrate, capable of restoring endothelium-dependent vasodilation by decreasing oxidative stress and increasing eNOS phosphorylation. Other compounds such as quercetin, butyrate, Tongxinluo and Danshensu have a protective effect on oxidative stress and inflammation in FFA-induced ED.

The Nrf2/HO-1 pathway is a possible target pathway to inhibit AGL-induced ED through modulation of inflammatory processes.

Keywords: Diabetes *Mellitus*, Endothelial Dysfunction, Free Fatty Acids.

Lista de Abreviaturas

- AG - Ácidos gordos
- AGL - Ácidos gordos livres
- AMPK - Proteína quinase ativada por 5 'AMP (*Activated protein kinase*)
- AMPK/PI3K/Akt/eNOS - Proteína quinase ativada por 5 'AMP /Fosfatidilinositol-3-cinase / Proteína cinase B / Sintase do óxido nítrico endotelial (*Activated protein kinase / Phosphoinositide-3-Kinase / Protein Kinase B / Endothelial Nitric Oxide Synthase*)
- AP - Ácido palmítico
- AP-I - Proteína ativadora
- AT - Aterosclerose
- CE - Células endoteliais
- DCV - Doenças cardiovasculares
- DE - Disfunção endotelial
- DM - Diabetes *Mellitus*
- DMT1 - Diabetes *Mellitus* Tipo 1
- DMT2 - Diabetes *Mellitus* Tipo 2
- eNOS - Sintase do óxido nítrico endotelial (*Endothelial Nitric Oxide Synthase*)
- EPCs - Células progenitoras endoteliais (*Endothelial Progenitor Cells*)
- EV - Endotélio vascular
- FF - Fenofibrato
- FFARs - Recetores de ácidos gordos livres (*free fatty acid receptor*)
- GLP-I - *Glucagon-like Peptide I*
- GLP-IR - *Glucagon-like Peptide I Receptor*
- GLP-IRA - *Glucagon-like Peptide I Receptor Agonist*
- GPCRs - Recetores acoplado à proteína G (*G protein-coupled receptor*)
- IRS - Substrato do recetor de insulina (*Insulin Receptor Substrate*)
- JNK/ MAPKs - *Jun N-terminal kinases/p38 mitogen-activated protein kinases*
- LA - Liraglutido
- NF - κ B - Fator nuclear kappa B (*Nuclear factor kappa B*)
- NO - Óxido nítrico (*Nitric Oxide*)
- O²⁻ - Anião superóxido
- PI3K - Fosfatidilinositol-3-cinase (*Phosphoinositide-3-Kinase*)
- PKB/Akt - Proteína cinase B (*Protein Kinase B*)
- ROS - Espécies reativas de oxigénio (*Reactive Oxygen Species*)

Introdução

A Diabetes Mellitus (DM) é um problema de saúde a nível global sendo um fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV). Cada vez mais somos uma sociedade sedentária sendo muito importante perceber como é que a diabetes condiciona o funcionamento do endotélio vascular (EV) e, nesse sentido, alguns estudos clínicos e experimentais têm estabelecido uma relação entre a resistência à insulina e a disfunção endotelial (DE) (Shi e Vanhoutte, 2017).

O EV é um órgão endócrino, constituído por uma monocamada de células endoteliais (CE) que reveste o interior das paredes das veias, capilares e artérias, estabelecendo contacto com os componentes do sangue (Krüger-Genge *et al.*, 2019). As CE são células polarizadas que apresentam inúmeras funções, nomeadamente, na adesão e agregação de plaquetas, na regulação do fluxo de sangue através do controlo do tónus vascular, na ativação de leucócitos, nos processos angiogénicos e inflamatórios, sendo também responsáveis pela resposta do sistema imunológico face a agentes invasores (Ghosh *et al.*, 2017). Pelo facto das CE possuírem morfologias diferentes, bem como diferentes características fenotípicas, desempenham funções diferenciadas em diferentes áreas do EV (Minami, Muramatsu e Kume, 2019).

A DE é causada por um desequilíbrio entre fatores vasoconstritores e vasodilatadores que resultaram de alterações no EV (Cyr *et al.*, 2020). Os ácidos gordos livres (AGL) podem contribuir para esta DE através de mecanismos de regulação negativa da via de sinalização PI3K/Akt/eNOS, com interrupção da produção de óxido nítrico (*Nitric Oxide*, NO) (García-Prieto *et al.*, 2015). Estes AGL em níveis elevados na corrente sanguínea são importantes na génese de processos inflamatórios, DM Tipo 2 (DMT2), hipertensão arterial e obesidade (Shi e Vanhoutte, 2017). No entanto, os AGL, mais concretamente o ácido palmítico (AP), têm sido utilizados para contornar algumas limitações farmacocinéticas, nomeadamente de fármacos antidiabéticos como os agonistas do recetor do *Glucagon-like Peptide 1* (GLP-1) associando o peptídeo ao AP de forma a aumentar o tempo de semi-vida, sendo questionável a relação custo-benefício desta associação.

I. Diabetes Mellitus

A DM é uma doença metabólica crônica que resulta de múltiplos fatores (alterações dos hábitos alimentares, sedentarismo, predisposição genética, fatores ambientais), não apresentando um alvo populacional específico, e em que ocorre uma deficiência na secreção ou resistência à insulina, tendo como consequência elevados níveis de glicose no sangue (Alberti e Zimmet, 1998; Hu *et al.*, 2018). A DM está intimamente relacionada com várias complicações vasculares e não vasculares, tendo como principais precursores a insulinoresistência e a hiperglicemia (Shah e Brownlee, 2016).

As complicações macrovasculares como a doença arterial periférica, a doença arterial vascular, doença cerebrovascular são as principais causas de morbidade e mortalidade na população diabética (Bertoluci e Rocha, 2017). Estas têm subjacente hiperglicemia crônica e que conduz a DE, levando à formação de placas de ateroma e obstrução das artérias, promovendo processos patogênicos de aterosclerose (AT). As complicações microvasculares incluem a retinopatia, a neuropatia e a nefropatia que conduzem muitas vezes a cegueira, a amputação dos membros inferiores e a insuficiência renal, respetivamente (Bertoluci e Rocha, 2017; Kang e Jung, 2016).

A DM Tipo I (DMTI) caracteriza-se por uma destruição autoimune de células β dos ilhéus de Langerhans do pâncreas, produtoras de insulina, com consequente deficiência ou reduzida secreção de insulina, designada por diabetes autoimune ou tipo IA. Em determinados casos, quando não se consegue atribuir a causa da diabetes ao processo imunológico denomina-se diabetes tipo I idiopática (Hu *et al.*, 2018). Esta autodestruição das células β resulta numa hiperglicemia, instalando-se abruptamente sintomas como a visão turva, diminuição do peso, polidipsia, poliúria, e nos casos mais severos cetoacidose, coma e até mesmo morte (Alberti e Zimmet, 1998).

Segundo as normas da Direção Geral de Saúde (DGS) um indivíduo é considerado diabético quando apresenta os seguintes parâmetros e valores no plasma venoso: glicemia em jejum ≥ 126 mg/dl (ou $\geq 7,0$ mmol/l); ou sintomas clássicos da diabetes e glicemia ocasional ≥ 200 mg/dl (ou $\geq 11,1$ mmol/l); ou glicemia ≥ 200 mg/dl (ou $\geq 11,1$ mmol/l) às 2 horas, na prova de tolerância à glicose oral com 75g de glicose; ou hemoglobina glicada A1c (HbA1c) $\geq 6,5\%$ (Tabela 1).

Tabela 1 - Parâmetros e valores no plasma venoso para diagnóstico da diabetes.

Glicemia em jejum	126 ≥ mg/dl (ou ≥ 7,0 mmol/l) ou
Sintomas clássicos da diabetes + glicemia ocasional	≥ 200 mg/dl (ou ≥ 11,1 mmol/l) ou
Glicemia	≥ 200 mg/dl (ou ≥ 11,1 mmol/l) às 2 horas na prova de tolerância à glicose oral com 75 g de glicose ou
HbA1c	≥ 6,5%

(Adaptado da Direção-Geral da Saúde, 2011).

A DMT2 é clinicamente silenciosa, caracterizando-se por um declínio progressivo da função das células β e/ou uma resistência à insulina. Está associada a fatores de risco como obesidade, sedentarismo, dislipidemia e hipertensão arterial (Miravet-Jiménez *et al.*, 2020). As complicações são mais agressivas nos indivíduos mais jovens, sendo a mais comum a nefropatia diabética, e estas complicações microvasculares quando surgem precocemente podem mesmo conduzir à morte precoce (Miravet-Jiménez *et al.*, 2020).

A terapêutica da DMT1 atualmente restringe-se à administração subcutânea de insulina, de modo a controlar com rigor os níveis de glicemia do doente, ou recorre-se a uma coadministração de insulina com um antidiabético oral. A medicina regenerativa tem apresentado como alternativas transplantes de ilhéus pancreáticos ou pâncreas, ou reprogramação de células somáticas autólogas adultas para um estado pluripotente induzido, semelhante às células estaminais embrionárias e posterior diferenciação em células β ou diferenciação direta a partir de células estaminais (Sena *et al.*, 2010).

Em relação à terapêutica na DMT2, existem várias alternativas como as biguanidas, os inibidores da *dipeptidil peptidase - 4* (DPP4), os inibidores do co-transportador de sódio-glicose tipo 2 (SGLT2), os agonistas do GLP-1R (GLP-1RA), as sulfonilureias, as tiazolidinedionas que podem ser administrados consoante o fenótipo da DMT2 e as comorbilidades do doente (Zheng *et al.*, 2018).

Os problemas cardiovasculares estão muitas vezes associados às comorbilidades da diabetes, e nesse sentido muitos estudos têm demonstrado a utilidade de alguns antidiabéticos com efeito cardioprotetor na terapêutica da DMT2, como por exemplo, os GLP-1RA e destes o liraglutido (LA), um insulinoscretor pertencente à família dos incretinomiméticos (Chilton, 2015; Miravet-Jiménez *et al.*, 2020).

Focando um pouco na secreção da insulina, esta é libertada aquando da entrada da glicose pós-pandrial para as células β pancreáticas através dos transportadores de glicose tipo 2 (GLUT2). A metabolização da glicose nestas células fará aumentar o rácio ATP/ADP o que conduz ao encerramento de canais de potássio dependentes de ATP e despolarização da membrana. Seguidamente, os canais de cálcio dependentes de voltagem abrem conduzindo ao influxo de cálcio e exocitose da insulina pré-formada. Após a sua libertação, a insulina liga-se aos seus recetores nos tecidos periféricos promovendo importantes vias de sinalização, como a via PI3K, as vias de regulação de síntese de proteínas, lípidos e glicogénio, a via de regulação da expressão de genes e crescimento de células, MAPK/ERK (*mitogen-activated protein kinases/extracellular signal-regulated kinases*). Todas estas vias são iniciadas com a ligação da insulina ao seu recetor, o que conduz a uma alteração da sua conformação e autofosforilação, e posteriormente ocorre a fosforilação de inúmeros substratos do recetor de insulina (*Insulin Receptor Substrate, IRS*).

A via PI3K inicia-se com a fosforilação do recetor, bem como dos substratos recetores de insulina em inúmeros resíduos de tirosina. Como resultado desta fosforilação criam-se locais de reconhecimento permitindo a interação entre PI3K e o IRS, o que resulta na formação de fosfatidilinositol-3-4-5-trifosfato (PIP3) que resulta da fosforilação de fosfolípidos do inositol pela PI3K. O PIP3 atua como segundo mensageiro intracelular responsável pela regulação da localização de inúmeras proteínas, como a serina/treonina cinase, Akt ou proteína cinase B (PKB/Akt), tornando-a suscetível à fosforilação e ativação pela PDK-1 (*PIP3-dependent protein kinase*) dependente de PIP3-PDK. Uma vez ativada, fosforila a PKB/Akt permite a regulação de respostas fisiológicas à insulina como a translocação para a membrana do transportador de glicose tipo 4 (GLUT4), imprescindível para a captação de glicose para o interior da célula, bem como a fosforilação da eNOS que conduz à produção de NO, importante na diminuição da adesão molecular e no aumento da vasodilatação (Münzel *et al.*, 2005; Saltiel e Kahn, 2001).

2. Endotélio Vascular

2.1 Distribuição, Estrutura e Principais Funções

As células progenitoras endoteliais (*Endothelial Progenitor Cells, EPCs*) com origem na medula óssea diferenciam-se em CE maduras, sendo aquelas mobilizadas para o sangue pelo NO, aquando da lesão de CE promovendo a reendotelização e neoangiogénese, impedindo a formação de placas de ateroma. Na presença de DMT1 e DMT2, as CE estão disfuncionais ocorrendo uma redução da capacidade de mobilização de EPCs via NO e de adesão das EPCs

nas estruturas dos vasos contribuindo para as complicações macrovasculares e microvasculares da DM (Thum *et al.*, 2007).

O EV é constituído por uma camada de CE que revestem a camada mais interna dos vasos sanguíneos, as quais desempenham inúmeras funções, como manutenção do tónus vascular, agregação plaquetária, regulam o equilíbrio hemostático, permeabilidade e fluidez do sangue e os processos inflamatórios e angiogénicos. (Lu *et al.*, 2015; Ghosh *et al.*, 2017; Minami, Muramatsu e Kume, 2019). As CE são específicas dos tecidos e/ou órgãos em que se encontram, apresentando heterogeneidade molecular e histológica, regulando inúmeras propriedades fisiopatológicas e secretando moléculas importantes como angiotensina II, prostaglandina H₂, tromboxano A₂, endotelina-I (ET-1), importantes na vasoconstrição, e fator de hiperpolarização, prostaciclina, bradicinina e NO, importantes na vasodilatação, contribuindo para um equilíbrio na vasodilatação/vasoconstrição (Minami, Muramatsu e Kume, 2019). Este equilíbrio é imprescindível para um bom funcionamento endotelial, caso contrário um desequilíbrio na secreção destas moléculas conduz a uma desregulação vascular (Nishikawa *et al.*, 2001).

3. Disfunção Endotelial na Diabetes

A DE resulta de um desequilíbrio entre fatores vasoconstritores e vasodilatadores que derivam do endotélio, ocorrendo uma diminuição da secreção de NO. O tipo de disfunção é de maior ou menor grau consoante o tipo e o controlo da diabetes (Lovshin e Cherney, 2015). A DE é responsável pelo risco de DCV e é um marcador precoce da aterosclerose (AT), uma vez que o endotélio se encontra sensível à interação com leucócitos, trombose, processos inflamatórios vasculares, coagulação, contribuindo estes fatores para a AT do vaso (Szmitko *et al.*, 2010; Takeda *et al.*, 2020).

Existem inúmeros mecanismos envolvidos na DE como resposta à hiperglicemia, muito comum na DMT1 e DMT2 não controladas, como inflamação, stress oxidativo aumentado pela formação de produtos finais de glicação avançada (*Advanced Glycation End Products*, AGE), os quais são responsáveis pela inativação do fator de relaxamento derivado do endotélio (*Endothelium Derived Relaxing Factor*, EDRF), isto é do NO (Ghosh *et al.*, 2017; Shi e Vanhoutte, 2017).

A inativação do NO, que conduz à DE, é devida aos elevados níveis do anião superóxido (O²⁻) resultantes da atividade de enzimas oxidativas como xantina oxidase, nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase (NADPH oxidase), lipoxigenases e cicloxigenases. A NADPH oxidase é geradora de espécies reativas de oxigénio (*Reactive Oxygen Species*, ROS),

as quais irão contribuir para a vasoconstrição através da inibição direta de NO, processos inflamatórios vasculares e inibição do cofator da eNOS, a tetrahidrobiopterina (BH4) (Dai e Dai, 2010). Para além disso, o desacoplamento da eNOS conduz a elevados níveis de anião superóxido ao invés de NO. A eNOS é responsável pela produção de NO, importante no recrutamento de EPCs, relaxamento do vaso e na proteção contra a AT, no entanto em condições patológicas a ativação excessiva de eNOS contribui para o desenvolvimento da AT (Takeda *et al.*, 2020).

Quando ocorre hiperglicemia característica da DM não controlada há uma elevada produção de anião superóxido pela NADPH oxidase e pela mitocôndria. O excesso de anião superóxido reage com o NO resultando em peroxinitrito (ONOO^-). O peroxinitrito é um oxidante e agente promotor de nitração, responsável pelas lesões nas células e, para além disso, o ONOO^- reage com o cofactor da eNOS, o BH4 ocorrendo o desacoplamento da eNOS. Assim, há a transferência de um eletrão para o oxigénio molecular ao invés de L-arginina formando o O^{2-} , em vez de NO. Paralelamente a atividade da dimetilarginina dimetilamino-hidrolase (*Dimethylarginine Dimethylamino-hydrolase*, DDHA) torna-se disfuncional devido à hiperglicemia e, conseqüentemente há um excesso de substrato de dimetilarginina assimétrica (*Asymmetric Dimethylarginine*, ADMA), semelhante estruturalmente à L-arginina (Potenza *et al.*, 2008). A ADMA compete com a L-arginina para o local catalítico da eNOS, contribuindo para a redução da biodisponibilidade de NO. Na presença de stress oxidativo com o aumento de ROS a fosforilação da serina do IRS I aumenta, e conseqüentemente há comprometimento da via PI3K/Akt e redução da produção de NO. No entanto, a restauração do cofator para a biossíntese de NO, o BH4, pode reverter a DE induzida pelo stress oxidativo através da redução da eNOS desacoplada (Krüger-Genge *et al.*, 2019).

4. Ácidos Gordos Livres

4.1 Recetores

Os ácidos gordos (AG) estão presentes no organismo humano e podem ser divididos em três classes principais: ésteres de colesterol, fosfolípidos e triglicerídeos importantes para a estrutura celular. Quando os AG não estão presentes na forma de éster no plasma circulante são designados de AGL e estão ligados à albumina, sendo os seus níveis plasmáticos dependentes da disponibilidade de ligação à proteína transportadora (Ghosh *et al.*, 2017; Kimura *et al.*, 2020). Os AG que derivam dos triglicerídeos que estão armazenados nos adipócitos ou resultantes da dieta rica em gordura distribuem-se pelas células e são utilizados como fonte energética para o metabolismo sistémico e contração dos músculos (Kimura *et*

al., 2020). São constituídos por cadeias alifáticas longas e formadas por um grupo metilo localizado numa extremidade e um grupo carboxílico na extremidade oposta e no decorrer das respostas biológicas são sintetizados e metabolizados como substrato de energia. Dependendo da existência ou não de ligações duplas são classificados em ácidos gordos saturados quando não apresentam ligação dupla, em ácidos gordos monoinsaturados constituídos apenas por uma ligação dupla e ácidos gordos polinsaturados constituídos pelo menos por duas ligações duplas. Os AG saturados provêm principalmente de óleo de coco, produtos lácteos e animais e os AG insaturados derivam de nozes, azeite. Podem também ser divididos em AG de cadeia longa (mais que 12 átomos de carbono), média (6-12 átomos de carbono) e curta (menos que 6 átomos de carbono) (Mielenz, 2017). Os lípidos provenientes da dieta são digeridos parcialmente no estômago pela lipase gástrica, no entanto o pH ácido dificulta a ação enzimática o que fará com que a maior parte da digestão se realize no intestino delgado. No duodeno o bolo alimentar, devido ao seu pH ácido estimula a libertação da hormona digestiva colecistocinina que ativa a motilidade da vesícula biliar ocorrendo a libertação da bÍlis para o duodeno e estimulando a secreção pancreática. Os lípidos são emulsificados pela ação dos sais biliares formando micelas de triglicerídeos e isto fará com que os AG possam ser absorvidos pelos enterócitos e ressintetizados em novas moléculas de triglicerídeos que penetram na linfa sob a forma de quilomícrons. Estes são secretados nos vasos linfáticos e na corrente sanguínea, sofrem a ação da lipoproteína lipase que hidrolisa os triglicerídeos dos quilomícrons libertando glicerol e AG que são captados pelos adipócitos e células hepáticas onde os AG são novamente sintetizados em triglicerídeos (Brown e Goldstein, 1986).

OS AGL para além de uma fonte energética exercem funções de regulação de homeostasia sob diversas condições fisiológicas e atuam em recetores acoplados à proteína G heterotrimérica (*G protein-coupled receptor*, GPCRs) denominados recetores de ácidos gordos livres (*free fatty acid receptor*, FFARs). Muitos destes GPCRs, GPR40 (FFAR 1), GPR41 (FFAR 3), GPR43 (FFAR 2) e GPR120 (FFAR 4) foram descobertos devido à ativação pelos AGL extracelulares (Yonezawa *et al.*, 2013).

Os AGL de cadeia curta ligam-se aos recetores FFAR 2, FFAR3 ativando a sinalização de MAPK e à produção de quimiocinas e citocinas e os AGL de cadeia média e longa ligam-se a FFAR1 e FFAR4 (Ghosh *et al.*, 2017; Kimura *et al.*, 2020;).

O GPR43 é expresso no tecido adiposo, nas células enteroendócrinas e células β pancreáticas e a sua ativação nestes tecidos é responsável pela regulação de distúrbios metabólicos como a secreção de GLP-1 e do peptídeo YY, que regula a ingestão de alimentos

e a secreção de insulina, aumentada nas células enteroendócrinas. A ativação deste recetor aumenta o consumo de gordura através da inibição no tecido adiposo da sinalização de insulina (Elia *et al.*, 2015). Demonstrou-se que na obesidade provocada por uma dieta rica em gordura, a expressão de GPR43 é induzida em células β pancreáticas, e no tratamento a curto prazo com uma dieta rica em gordura a sensibilidade à insulina e tolerância à glicose não se alterou quer em murganhos *Wildtype* quer *Knockout* para o GPR43. No entanto, no tratamento a longo prazo, *Knockout* para o GPR43 desenvolveram intolerância à glicose e hiperglicemia em jejum relativamente aos *Wildtype*. Assim, nas células β pancreáticas a expressão de GPR43 é capaz de regular, em condições de obesidade induzida por dieta, a atividade metabólica e é um possível alvo a ser utilizado na terapêutica (Elia *et al.*, 2015; Gabriel e Fantuzzi, 2019).

O GPR41 é também expresso nas células enteroendócrinas, no sistema nervoso periférico e no tecido adiposo e a sua ativação promove a secreção de GLP-I e do peptídeo YY nas células enteroendócrinas e, conseqüentemente aumenta a frequência cardíaca e o consumo de energia, mantendo no sistema nervoso simpático o equilíbrio energético. Isto deve-se ao facto dos recetores GLP-I expressos nos átrios cardíacos ao serem ativados pelos GLP-IRA secretam ANP (*atrial natriuretic peptide*) conduzindo ao aumento da frequência cardíaca (Kim *et al.*, 2013). No tecido adiposo o GPR41 estimula a libertação de leptina, responsável pela regulação do apetite e por essa razão, este recetor é um possível alvo no tratamento da obesidade (Elia *et al.*, 2015). O GPR41 e GPR43 nas células epiteliais do intestino conduzem à sinalização da MAPK e produção de quimiocinas e citocinas.

O GPR40 é expresso nas células enteroendócrinas e células β pancreáticas, e estimula a mobilização de cálcio intracelular a partir do retículo sarcoplasmático ativando a fosfolipase C. Este recetor ao ser ativado, aumenta a secreção de insulina estimulada pela glicose indiretamente pela produção das incretina - GLP-I e GIP (*glucose-dependent insulinotropic polypeptide*) pelas células enteroendócrinas, e diretamente pela libertação de insulina das células β pancreáticas (Yonezawa *et al.*, 2013).

O GPR120 é expresso em inúmeros tecidos e células, como células do sistema imune, nos adipócitos e no intestino. Nos macrófagos inibe a inflamação através da inibição da sinalização pró - inflamatória de TLR (*Toll-like receptors*) e TNF-alfa. No intestino é expresso pelas células L e K, e estas libertam GLP-I e GIP, respetivamente. A disfunção deste recetor conduz a intolerância à glicose em murganhos e humanos, tendo por isso, um importante papel na regulação de distúrbios associados ao metabolismo (Elia *et al.*, 2015).

Os FFARs facilitam a secreção de incretinas e insulina, promovem a diferenciação dos adipócitos e exercem efeitos anti-inflamatórios. Todas estas funções são responsáveis pela

regulação de energia e estabelecimento da homeostasia do sistema imunológico, sendo alvos potenciais na terapêutica de doenças do sistema imunológico e distúrbios metabólicos (Kimura *et al.*, 2020).

Para além dos FFARs, os recetores nucleares PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptors*) exercem atividade anti-inflamatória e anti-aterogénica, através da inibição do NF- κ B. Este é responsável pela transcrição de metaloproteinases da matriz, moléculas de adesão e diferentes citocinas que intervêm no processo de AT. O PPAR γ é maioritariamente expresso no tecido adiposo, mas também em macrófagos, no endotélio, células β e células hematopoiéticas e o seu ligante endógeno é derivado da prostaglandina D2. O PPAR α é expresso no fígado, coração, endotélio, rins e músculo e os seus ligantes endógenos são os AGL, sendo responsável pela oxidação destes ácidos e pela transcrição de genes reguladores de lipoproteínas e de fatores com ação anti-inflamatória. O recetor PPAR δ é expresso no tecido adiposo, intestino, músculo e fígado e está envolvido no metabolismo de lípidos, nomeadamente na oxidação de AG (Brito Gomes, De, 2006).

4.2 Ácidos Gordos Livres e a Resistência à Insulina - mecanismos subjacentes

As alterações no metabolismo dos AGL podem conduzir a síndrome metabólica e desenvolvimento de processos de AT. Em indivíduos obesos e com DMT2, os AGL apresentam níveis plasmáticos elevados e estão envolvidos na patogénese de DCV e na AT. Estes níveis plasmáticos elevados conduzem a um efeito inibitório da ação anti-lipólise de insulina, e há um aumento dos níveis destes ácidos no plasma contribuindo para a resistência à insulina. Esta resistência poderá dever-se à inativação da PI3K mediada por AGL, com interrupção da via de sinalização da insulina, estando a captação da glicose comprometida e relacionada com os níveis circulantes de AGL (Boden, 2008).

A DMT2 relaciona-se com o aumento das concentrações no plasma de AGL ou hipertrigliceridemia, constituindo estes AGL fonte de ROS que levam a um stress oxidativo em vários tipos de células, como as células do sistema imunológico, células vasculares, hepatócitos, através da via da proteína cinase (PKC) que ativa a NADPH oxidase (Ghosh *et al.*, 2017). A inflamação induzida pelos AGL está também relacionada com a sinalização do NF- κ B, que conduz a uma ativação do TNF- α , IL-6 e aumento no plasma da proteína quimiotática de monócitos-1 (*monocyte chemoattractant protein*, MCP-1) contribuindo para a inflamação crónica que poderá ser a causa de resistência à insulina no tecido adiposo (Boden, 2008).

Os AGL relacionados com a obesidade e DMT2 atuam igualmente como moduladores do inflamassoma NLPR3 (*Family Pyrin Domain Containing 3*), que é um sensor intracelular inato do

sistema imunitário intervindo na regulação de vários processos, como indução de processos inflamatórios e ativação da caspase-1 e é ativado por DAMPs (*Damage-associated molecular patterns*). O inflamassoma NLRP3 é constituído por proteínas NLRP3, proteína caspase-1 e ASC (*apoptosis-associated speck-like protein*), contendo o ASC um CARD (*C-terminal caspase recruitment domain*) e um PYD (*pyrin domain*) N-terminal. O NLRP3 contém três domínios: um domínio de nucleótido central – domínio NACHT, um PYD e LRR (*leucine-rich repeats*) C-terminal e a caspase-1 é constituída pelo CARD, pelos domínios conservativos para interação homofílica e pelos domínios catalíticos. Quando da estimulação pelo DAMP, o domínio NACHT associa-se a NLRP3 através da interação entre os PYDs ocorre a oligomerização de ASC, no entanto, devido à ausência de CARD a caspase-1 não é recrutada. Assim, através da interação homofílica do CARD, o ASC oligomerizado induz a autoativação de caspase-1 interagindo com ela ocorrendo efeitos pró-inflamatórios (Poznyak *et al.*, 2020; Z *et al.*, 2019). O NLRP3 é o que mais se relaciona com inúmeras doenças no ser humano como AT, doenças neurodegenerativas, uma vez que é o melhor caracterizado. O AP ativa o inflamassoma NLRP3, e como resultado há uma aumento na formação de ROS nos macrófagos conduzindo à inibição da sinalização de AMPK, regulador negativo dos processos inflamatórios e na geração de ROS. Para além disso, num estudo realizado numa linha celular de hepatócitos de murganho, o AP induz a IL-1 β inibindo a fosforilação de Akt que é induzida pela insulina, concluindo que os AGL conduzem a uma resistência à insulina através da geração de ROS e pela via inflamassoma NLRP3 (Poznyak *et al.*, 2020).

4.3 Mecanismo de ação dos Ácidos Gordos que conduzem a Disfunção Endotelial

A DE mediada pelos AGL tem inúmeros mecanismos subjacentes, nomeadamente uma deficiente produção de NO e sinalização de insulina que conduzem a processos inflamatórios, stress oxidativo, apoptose nas CE e ativação do sistema renina-angiotensina.

Os AGL levam a uma DE através da regulação negativa da sinalização da via AMPK/PI3K/Akt/eNOS. A insulina é responsável por mediar a vasodilatação por meio de NO e a AMPK é uma enzima importante na homeostase celular tendo um importante papel na sinalização desta hormona, e a sua ativação ocorre pelo aumento do rácio AMP/ATP (Kimura *et al.*, 2020; Miravet-Jiménez *et al.*, 2020). Um mecanismo pelo qual a AMPK aumenta a oxidação de AG é através da fosforilação e inativação da acetil-CoA carboxilase (ACC), a qual catalisa a síntese de malonil-CoA, precursor da síntese de AG. O elevado nível de AGL na corrente sanguínea altera a vasodilatação dependente do endotélio, ao contrário da

vasodilatação independente do endotélio que permanece inalterada, sugerindo que os AGL exercem funções inibitórias na produção de NO nas CE (Takeda *et al.*, 2020; Kimura *et al.*, 2020). Demonstrou-se num estudo que a infusão de AGL em indivíduos sensíveis à insulina conduziu a uma diminuição significativa de eNOS e a uma menor produção de NO. Para além disso, os AGL inibem a expressão do RNAm da eNOS nas CE da aorta de rato (Storniolo *et al.*, 2014).

Os AG saturados como o AP e esteárico demonstraram exercer ações prejudiciais nas CE da aorta do porco através da regulação negativa da eNOS. Apesar dos ácidos gordos polinsaturados (PUFA) exercerem proteção contra a DE, em elevados níveis podem exercer efeito negativo no endotélio, com consequente diminuição da disponibilidade de NO e aumento de ET-1. O ácido linoleico é um PUFA omega-6, que na sua forma livre exerce uma regulação negativa na fosforilação de eNOS e consequente ativação, prejudicando a disponibilidade intracelular de NO nas HUVECs (*Human Umbilical Vein eEndotelial Cells*)(Storniolo *et al.*, 2014).

No entanto, os PUFA também têm um papel protetor contra a DE, sendo um exemplo o ácido eicosapentaenóico (EPA) com efeito protetor contra a DE induzida pelo AP e mediada pela ativação da via AMPK/PI3K/Akt/eNOS. Para além disso, o EPA exerce efeito inibitório na apoptose das CE induzidas pelo AP e na ativação de proteínas que intervêm na apoptose, nomeadamente p53, Bax e Caspase-3. Segundo vários estudos clínicos, demonstrou-se que os polifenóis constituintes do azeite são capazes de reverter a diminuição na síntese de NO e o aumento dos níveis de ET-1. O EPA e os compostos que constituem o azeite oliva, como o ácido oleico podem ser benéficos na DE induzida pelos AGL. Estes estudos limitaram-se apenas à utilização de modelos *in vitro*, e por isso devem ser realizados mais estudos em animais e em humanos para provar os efeitos destes compostos na DE induzida pelos AGL (Kimura *et al.*, 2020).

A via AMPK/PI3K/Akt/eNOS tem efeitos positivos na AT e na DE em murganhos alimentados com uma dieta rica em gorduras. De facto, o *Salidroside*, um glicosídeo fenilpropanóide isolado da planta medicinal *Rhodiolarosea* inibe a DE através da ativação da via AMPK/PI3K/Akt/eNOS. Outro fator importante capaz de inibir a DE associada a obesidade induzida pelos AGL em humanos é a L-carnitina, responsável pelo transporte dos AG até à mitocôndria para sofrer β oxidação (Shankar *et al.*, 2004).

Na produção de NO é fundamental o cálcio. Este ião promove a ativação da eNOS, a qual é dependente do cálcio. Os ácidos oleico e linoleico diminuem a produção de NO ao

diminuírem a mobilização do cálcio, como verificado em CE de aortas bovinas (Figura 1) (Demer *et al.*, 1993).

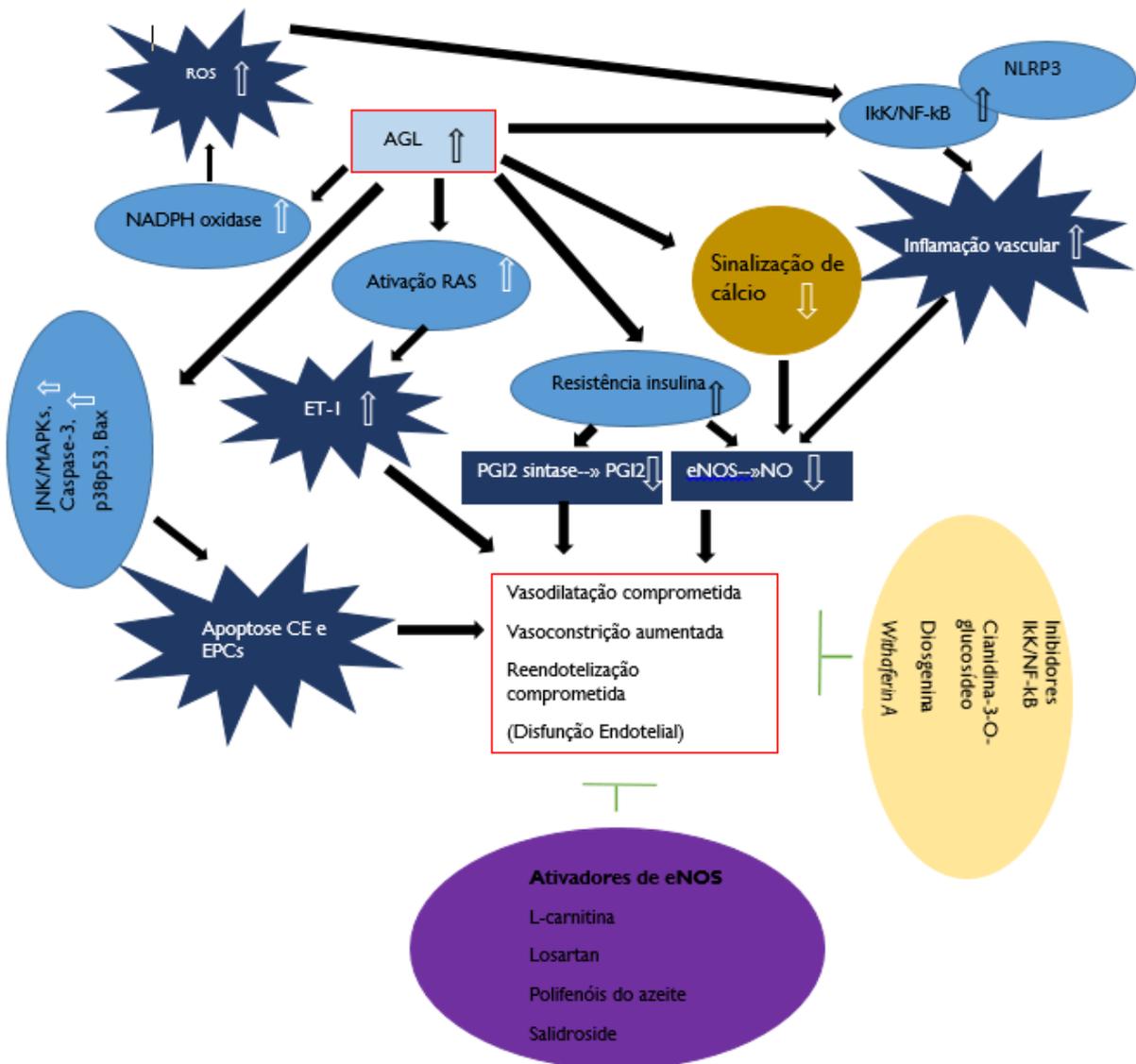


Figura 1 – Mecanismos que conduzem à disfunção endotelial induzida pelos ácidos gordos livres (Adaptado de Ghosh *et al.*, 2017)

Os AG têm um papel mediador no stress oxidativo e na sinalização de processos inflamatórios no endotélio. Em monócitos expostos a AGL observou-se um aumento de ROS dose-dependente que conduziu à adesão destes às CE. Em indivíduos saudáveis observou-se que os AGL aumentavam os fatores de risco cardiovasculares, caracterizados por elevados níveis de marcadores endoteliais, sendo um mecanismo possível para o desenvolvimento das DCV.

Os AGL podem contribuir para processos inflamatórios que conduzem a uma elevada permeabilidade endotelial. O consumo de AG trans através da dieta ativa a via NF- κ B, o que fará aumentar a produção de superóxido endotelial e diminuir a secreção de NO. Os AGL de PUFA como o ácido linoleico induzem respostas inflamatórias aumentando os níveis de MCP-1, VCAM-1, TNF- α , ICAM-1 através da ativação da via NF- κ B e da proteína ativadora (AP-1) e inibem a libertação de NO. O ativador do NF- κ B, IKK- β também diminui a produção de NO. O AP nas CE microvasculares é capaz de ativar o inflamassoma NLRP3, com consequente diminuição das proteínas ZO-1 e ZO-2 das junções apertadas do endotélio (Wang *et al.*, 2016).

Alguns fármacos como a nifedipina e a amlodipina, pertencentes aos bloqueadores de canais de cálcio exercem ação protetora na DE induzida pelos AGL através da inibição do stress oxidativo e dos processos inflamatórios. Estudos *in vitro* demonstraram que o NF- κ B medeia a DE induzida pelos AGL, assim como o efeito protetor destes fármacos através da inibição da fosforilação da subunidade p65 do NF- κ B. Para além disso, uma lactona esteróide, *Withaferin A*, pelas suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias tem um importante papel na resistência à insulina induzida pelo AP através da inibição da fosforilação de IKK β /NF- κ β e diminuição da libertação de citocinas pró-inflamatórias, IL-6 e TNF- α . Neste mesmo estudo, uma saponina esteroide-diosgenina demonstrou regular positivamente o TNF- α e IL-6 e melhorar a sinalização de insulina através da modulação da fosforilação da tirosina do IRS-1 induzindo a produção de NO mediada pela insulina e melhorar a sinalização de insulina através (Liu *et al.*, 2012).

Adicionalmente, descobriu-se que uma antocianina - cianidina-3-O-glucosídeo presente em grandes quantidades na dieta do ser humano, exerce efeitos protetores sobre o endotélio contra o efeito tóxico induzido pelo AP através da inibição das moléculas de adesão e inibição do NF- κ B. A cianidina-3-O-glucosídeo ativa diretamente as vias do Nrf2 (*nuclear factor erythroid 2-related factor*) inibindo o stress oxidativo e nas CE microvasculares humanas conduz a uma expressão aumentada dos genes citoprotetores (Fratantonio *et al.*, 2017).

O sistema renina-angiotensina é ativado pelos AGL e é importante na regulação da pressão arterial. As CE expressam na sua membrana a enzima de conversão de angiotensina (ECA), imprescindível para a síntese de angiotensina II, um potente vasoconstritor que causa vasoconstrição através da estimulação da endotelina e diminuição da produção NO. Observou-se em murganhos *knockout* para a ECA uma elevada expressão génica de enzimas envolvidas na lipólise e na oxidação de AG, o que explica a relação entre o sistema renina-angiotensina e a origem de AGL. Apesar da ativação leucocitária ter efeitos negativos no endotélio, os AGL ao ativarem os leucócitos contribuem para as propriedades de adesão

destes de forma dependente da angiotensina II conduzindo à DE, e por isso efeitos inibitórios no sistema renina-angiotensina são importantes na prevenção deste acontecimento endotelial (Figura 1) (Miravet-Jiménez *et al.*, 2020). Demonstrou-se que uma dose única dos fármacos perindopril ou losartan, inibidor do sistema de conversão da angiotensina e antagonista do recetor da angiotensina II respetivamente, impede a desregulação induzida pelos AGL da vasodilatação dependente do endotélio (Nemoto *et al.*, 2011; Lorenzati *et al.*, 2010).

Os AGL também exercem efeitos nas EPCs, importantes na recuperação endotelial aquando da lesão de CE, contribuindo o stress oxidativo para a apoptose e disfunção destas células. O AP é o tipo de AGL mais abundante na corrente sanguínea e através da via JNK/MAPKs causa apoptose das EPCs (Figura 1). Foram descritos efeitos negativos do AP nas EPCs em indivíduos com síndrome metabólica através da regulação de lncRNA (*Long non coding RNAs*) MEG3 (Yang *et al.*, 2017). MEG3 é útil para as células tronco mesenquimais do ser humano se diferenciarem em CE, apesar de alguns estudos demonstrarem ter interferências nos processos angiogénicos e proliferativos nas CE vasculares e a expressão destas se correlacionar com o envelhecimento do sistema cardiovascular (Yang *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2016; Ghosh *et al.*, 2017).

5. Danos Vasculares induzidos pelo Ácido Palmítico e a intervenção do Fenofibrato

O Fenofibrato (FF) é um agonista do recetor PPAR α pertencente à terceira geração dos derivados de ácido fíbrico e é utilizado no tratamento de complicações vasculares da DM (Yoon, 2009). É importante no tratamento de indivíduos com dislipidemia aterogénica, apesar de ainda não serem conhecidos os efeitos protetores do FF na vasodilatação dependente do endotélio. O ácido fenofíbrico é principal forma metabólica do FF *in vivo* tendo ambos sido utilizados no tratamento de células endoteliais aórticas de murganhos para estudar os efeitos protetores do FF na aorta torácica (Lu *et al.*, 2015). Neste estudo todos os ratos tiveram livre acesso a água e comida, tendo sido divididos aleatoriamente em 3 grupos: dieta padrão, dieta rica em gordura e dieta rica em gordura e tratamento com FF. Os ratos dos dois últimos grupos receberam uma dieta rica em gordura durante 5 meses para tornar os ratos fêmeas obesos e em seguida procedeu-se ao seu tratamento com FF durante mais 2 meses (Lu *et al.*, 2015). Os resultados obtidos demonstraram que o FF diminui a obesidade nos ratos alimentados com dieta rica em gordura e melhora as características a nível sanguíneo de ratos alimentados com dieta rica em gordura. Isto porque, ao fim de 7 meses a serem alimentados com esta dieta houve um aumento da massa corporal, níveis elevados de triglicédeos, LDL,

colesterol total, AGL e AP no soro e níveis mais baixos de HDL. No entanto, durante os 2 meses seguintes de tratamento com FF houve redução da massa corporal e inverteram-se os referidos níveis séricos. Como os ratos fêmeas alimentados com uma dieta rica em gordura obtiveram níveis elevados de AGL, o AP foi selecionado como o ácido gordo representativo da dieta rica em gordura no estudo dos seus efeitos nas células endoteliais aórticas de murganhos (Lu *et al.*, 2015). O FF exerceu efeitos positivos ao nível da deposição de lípidos na aorta torácica pois verificou-se uma maior deposição de lípidos nas paredes vasculares no grupo com uma dieta rica em gorduras, enquanto no grupo com tratamento de FF observou-se uma diminuição destes lípidos.

Adicionalmente no grupo de animais sujeitos ao tratamento com o FF observou-se uma melhoria significativa no relaxamento induzido pela acetilcolina. Após a remoção do endotélio houve uma diminuição no relaxamento à acetilcolina em comparação aos vasos intactos demonstrando que este relaxamento é endotélio-dependente. O L-NAME, um inibidor específico da eNOS, inibiu o relaxamento, comprovando que a vasodilatação dependente do endotélio à acetilcolina é dependente da atividade da eNOS. Assim, a alimentação crónica com uma dieta rica em gorduras é prejudicial à vasodilatação dependente do endotélio, no entanto o tratamento com FF exerce efeitos positivos (Lu *et al.*, 2015). Demonstrou-se também que a proliferação de células endoteliais aórticas de murganhos foi inibida pelo AP assim como uma diminuição dose-dependente na viabilidade das células para doses de AP que variam de 100 μM a 400 μM ; no entanto o ácido fólico aumentou esta viabilidade inibida pelo AP.

Os investigadores colocaram a hipótese de que este dano possivelmente estaria relacionado com o stress do retículo endoplasmático induzido pelo AP e que a diminuição deste stress conduziria à diminuição do comprometimento da vasodilatação dependente do endotélio ao verificar-se que o ácido 4 - fenilbutírico (4-PBA) era capaz de reverter o efeito negativo exercido pelo AP sobre a vasodilatação dependente do endotélio. Para além disso, os genes relacionados com o stress do retículo endoplasmático, como o GRP78 (*78-kDa glucose-regulated protein*) e CHOP, fosforilação de JNK e ERK estavam aumentados na aorta torácica sujeita a dieta rica em gordura. Pelo contrário, o tratamento com FF reverteu este stress e a fosforilação de JNK e ERK, diminuiu a fosforilação e ativação da eNOS conduzindo a uma redução na produção de NO. Assim, uma dieta rica em gordura e o tratamento com o AP conduzem a DE havendo uma menor fosforilação de eNOS e aumento do stress do retículo endoplasmático. O FF restaura a vasodilatação dependente do endotélio diminuindo o stress, sendo no futuro uma possível utilização na clínica das doenças cardiovasculares.

6. Efeitos Protetores de outros fármacos e compostos da Inflamação e Stress oxidativo na Disfunção Endotelial induzida por Ácidos Gordos Livres

A inflamação e o stress oxidativo são os grandes responsáveis pela patogénese da DE. O NO ao ser inativado pelo sistema de enzimas oxidativas como NADPH oxidase, cicloxigenases, lipoxigenases conduz à DE por aumento dos níveis de anião superóxido. Nos doentes com DCV e com síndrome metabólica a observação de DE induzida pelo stress oxidativo é de elevada preocupação e nesse sentido são inúmeros os compostos que atuam contra a DE com valor na terapêutica como a rosuvastatina, pitavastatina, glicazida e pioglitazona.

A rosuvastatina é um fármaco pertencente ao grupo das estatinas de terceira geração utilizado no tratamento de dislipidemias e no controlo dos níveis de colesterol tendo demonstrado efeitos benéficos na função endotelial em doentes com insuficiência cardíaca crónica, esclerose sistémica e doença inflamatória articular (Erbs *et al.*, 2011). Num estudo realizado em doentes com insuficiência cardíaca crónica, a rosuvastatina através da indução de efeitos antioxidantes, fosforilação da Akt e neovascularização melhorou a dilatação fluxo-mediada (Geng *et al.*, 2020). Também a pitavastatina, uma estatina de terceira geração assume um papel protetor na DE relacionada com a obesidade, diminuindo os triglicéridos e aumentando a dilatação fluxo-mediada. A glicazida, antidiabético oral pertencente à classe das sulfonilureias, exerce igualmente efeito protetor na DE em indivíduos com DMT2 aumentando os níveis de EPCs (Geng *et al.*, 2020). A pioglitazona, agonista dos PPAR γ tem efeitos benéficos no tecido adiposo e na DE em doentes com doença arterial coronária e pré-diabetes. Nestes doentes, a pioglitazona melhora a sensibilidade à insulina, diminui o TNF- α e outros marcadores de inflamação. A associação da pioglitazona à quercetina, esta pertencente ao grupo dos compostos vegetais flavonoides e com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, faz com que exerçam um efeito protetor sinérgico na DE demonstrado na aorta de modelos animais com DMT2 (Ghosh *et al.*, 2017).

Outro composto que exerce efeitos benéficos na DE é o butirato, um ácido gordo constituído por 4 carbonos, que ao ser administrado pela via oral em murganhos *Knockout* para a Apo E é capaz de inibir o desenvolvimento de AT diminuindo os níveis de ROS nas CE e a mobilização e ativação dos macrófagos no local da lesão. Esta diminuição de ROS pelo butirato é realizada por meio de regulação negativa de NADPH oxidase e óxido nítrico sintetase induzível (iNOS) nas lesões ateroscleróticas (Aguilar *et al.*, 2016).

Os medicamentos tradicionais chineses através das suas funções protetoras são capazes de melhorar a função do endotélio. Um exemplo é o Tongxinluo que num estudo em modelos

animais, através do aumento de NO e diminuição de ET-I, exerceu efeito protetor contra a DE (Dai *et al.*, 2011). Também o Danshensu, outro medicamento tradicional chinês, extraído da erva *Salvia miltiorrhiza*, exerce efeitos protetores sobre o endotélio em modelos animais com hiper-homocisteinemia. Esta proteção é realizada através da inibição da expressão de citocinas pró-inflamatórias e moléculas de adesão no EV e modula os parâmetros anormais como ET-I, NO e outros marcadores de processos inflamatórios induzidos pela hiper-homocisteinemia. A homocisteína é um subproduto de inúmeros processos biológicos que existem no ser humano e quando aumentada pode estar relacionada a AT, lesão no endotélio vascular e reações inflamatórias (Yang *et al.*, 2010).

7. Perspetivas futuras: via Nrf2/HO-1 como possível alvo na Disfunção Endotelial induzida pelos Ácidos Gordos Livres

A via Nrf2 / heme oxigenase-1 (HO-1) é um possível alvo para inibir a DE induzida por AGL uma vez que ativada tem demonstrado benefícios em inúmeras doenças através da modulação de processos inflamatórios e stress oxidativo. Pertencente à subfamília de fatores de transcrição, o Nrf2 é importante ao nível dos mecanismos de defesa da célula contra o stress oxidativo e na supressão das cascatas de sinalização relacionadas com a inflamação (Ma, 2013). Assume também um papel de proteção na cardiotoxicidade induzida pelos AGL e DE devido à sua ação direta na oxidação mitocondrial dos AG. Em contrapartida, o HO-1 é transcricionalmente regulado pelo Nrf2, tem propriedades antioxidantes e é inibido quando ocorre lesão de CE induzida pelo stress oxidativo. O HO-1 ao ser induzido no endotélio de murganhos protege da lesão vascular provocada pela DMT2, isto porque o HO-1 promove a reendotelização elevando o número de EPCs através de AMPK (FY *et al.*, 2012).

O HO-1 tem um papel importante anti-apoptótico e a sua isoforma HO-2 está presente na toxicidade provocada pelo glutamato no endotélio cerebrovascular, desempenhando uma ação defensora contra a rutura da barreira hematoencefálica e deficiências neurológicas, através da sinalização de Nrf2. Para além disso, o HO-1 ao ser induzido melhora a DE induzida pelos AGL na aorta do rato através da ativação da via AMPK/ PI3K/eNOS. Este estudo também demonstrou que a proteína anti-inflamatória adiponectina é regulada endogenamente pelo HO-1 em modelos de animais com DM e obesidade, assumindo o HO-1 um importante papel nos processos de regulação de toxicidade no endotélio induzido pelos AGL (Wang *et al.*, 2012).

Conclusão

O EV assume um papel importante na regulação normal da função vascular e é constituído por CE responsáveis pela secreção de inúmeras moléculas (angiotensina II, tromboxano A₂, ET-1, prostaglandina H₂, bradicinina e NO), importantes na manutenção do equilíbrio vasoconstrição/vasodilatação. Alterações neste equilíbrio conduzem a DE onde ocorre uma diminuição da produção de NO e um aumento do stress oxidativo contribuindo para o desenvolvimento de AT. Apesar do controlo metabólico e dos níveis de glicose no sangue a progressão da placa de ateroma continua a ser um grande problema nas complicações da DM.

Os AGL apresentam-se em níveis elevados no plasma em indivíduos obesos e com DMT2 contribuindo para a DE através da regulação negativa da sinalização da via AMPK/PI3K/Akt/eNOS, pela interrupção da produção de NO mediada pela sinalização de cálcio e têm um papel mediador no stress oxidativo e na sinalização de processos inflamatórios no EV.

No entanto, os AGL, mais concretamente o ácido palmítico (AP), têm sido utilizados para contornar algumas limitações farmacocinéticas, nomeadamente de fármacos antidiabéticos como os agonistas do recetor do *Glucagon-like Peptide 1* associando o peptídeo ao AP de forma a aumentar o tempo de semi-vida, sendo questionável a relação custo-benefício desta associação.

Como vimos os AGL para além dos benefícios nomeadamente no aumento do tempo de semi-vida do de agonistas do GLP-1R, também exercem efeitos negativos como a DE que poderá ser uma possível causa de AT sendo esta uma preocupação e complicação da DM. Será que os benefícios desta associação superam os riscos por ela provocada? Ainda há muitas questões por descobrir e têm sido realizados cada vez mais estudos nesse sentido.

Na DE induzida por AGL tem-se explorado alguns fármacos, originalmente com outras indicações terapêuticas, mas que se mostram promissores em estudos pré-clínicos, tais como fenofibrato, estatinas, quercetina, butirato e compostos da medicina tradicional chinesa. A via Nrf2/HO-1 é importante na inibição do stress oxidativo e processos inflamatórios, melhora a resistência à insulina, inibe o NF-κB, tornando-se assim futuramente numa possível via de terapêutica da DE induzida pelos AGL.

Bibliografia

ABDUL-GHANI, Muhammad *et al.* - Cardiovascular disease and type 2 diabetes: Has the dawn of a new era arrived? **Diabetes Care.** . ISSN 19355548. 40:7 (2017) 813–820. doi: 10.2337/dcl6-2736.

AGUILAR, Edenil C. *et al.* - Oral butyrate reduces oxidative stress in atherosclerotic lesion sites by a mechanism involving NADPH oxidase down-regulation in endothelial cells. **Journal of Nutritional Biochemistry.** . ISSN 18734847. 34: (2016) 99–105. doi: 10.1016/j.jnutbio.2016.05.002.

ALBERTI, K. G. M. M.; ZIMMET, P. Z. - Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part I: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. **Diabetic Medicine.** . ISSN 07423071. 15:7 (1998) 539–553. doi: 10.1002/(SICI)1096-9136(199807)15:7<539::AID-DIA668>3.0.CO;2-S.

ALVES, M.; NEVES, C.; MEDINA, J. L. - Incretinas e tratamento da diabetes. **Revista Portuguesa de Diabetes.** 2:4 (2007) 22–25.

ANDRIKOU, Eirini *et al.* - GLP-1 receptor agonists and cardiovascular outcome trials: An update. **Hellenic Journal of Cardiology.** . ISSN 22415955. 60:6 (2019) 347–351. doi: 10.1016/j.hjc.2018.11.008.

ARAKAWA, Masayuki *et al.* - Inhibition of monocyte adhesion to endothelial cells and attenuation of atherosclerotic lesion by a glucagon-like peptide-1 receptor agonist, exendin-4. **Diabetes.** . ISSN 00121797. 59:4 (2010) 1030–1037. doi: 10.2337/db09-1694.

B, Wang; Y, Yu; L, Han - Adiponectin improves endothelial dysfunction caused by elevated FFAs levels, partially through cAMP-dependent pathway. **Diabetes research and clinical practice.** . ISSN 1872-8227. 97:1 (2012) 119–124. doi: 10.1016/j.DIABRES.2012.02.009.

BAGGIO, Laurie L.; DRUCKER, Daniel J. - Biology of Incretins: GLP-1 and GIP. **Gastroenterology.** . ISSN 00165085. 132:6 (2007) 2131–2157. doi: 10.1053/j.gastro.2007.03.054.

BERTOLUCI, Marcello Casaccia; ROCHA, Viviane Zorzanelli - Cardiovascular risk assessment in patients with diabetes. **Diabetology and Metabolic Syndrome.** . ISSN 17585996. 9:1 (2017). doi: 10.1186/s13098-017-0225-1.

BODEN, Guenther - Obesity and Free Fatty Acids (FFA). **Endocrinology and metabolism clinics of North America.** 37:3 (2008) 635. doi: 10.1016/J.ECL.2008.06.007.

BRITO GOMES, Marília DE - Glitazonas e síndrome metabólica: Mecanismos de ação, fisiopatologia e indicações terapêuticas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. . ISSN 00042730. 50:2 (2006) 271–280. doi: 10.1590/S0004-27302006000200013.

BROWN, Michael S.; GOLDSTEIN, Joseph L. - A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. **Science**. 232:4746 (1986) 34–47. doi: 10.1126/SCIENCE.3513311.

CARVALHO, D. *et al.* - **Agonistas dos Receptores do GLP-I no Tratamento da Diabetes Tipo 2 GLP-I Receptor Agonists in Type 2 Diabetes Treatment**

CHILTON, R. J.; ROBERT CHILTON, P. J. - Diabetes & Metabolism Potential Cardiovascular Effects of the Glucagon-like Peptide-I Receptor Agonists. **J Diabetes Metab.**, 64172(6), (2015) 4832155-6156.

CYR, Anthony R. *et al.* - Nitric Oxide and Endothelial Dysfunction. **Critical Care Clinics**. . ISSN 15578232. 36:2 (2020) 307–321. doi: 10.1016/j.ccc.2019.12.009.

DAI, D.-Z.; DAI, Y. - Role of endothelin receptor A and NADPH oxidase in vascular abnormalities. **Vascular health and risk management**. ISSN 1178-2048, 6, (2010) 787-94.

DAI, Weidong *et al.* - Effect of the traditional Chinese medicine tongxinluo on endothelial dysfunction rats studied by using urinary metabonomics based on liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. . ISSN 07317085. 56:1 (2011) 86–92. doi: 10.1016/j.jpba.2011.04.020.

DEMER, L. L. *et al.* - Mechanical stimulation induces intercellular calcium signaling in bovine aortic endothelial cells. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**. . ISSN 00029513. 264:6 33-6 (1993). doi: 10.1152/ajpheart.1993.264.6.h2094.

DIREÇÃO-GERAL DA SAÚDE - Diagnóstico e Classificação da Diabetes Mellitus. **Norma da Direção Geral da Saúde (002/2011)**. (2011) 1–13.

ELIA, Ilaria *et al.* - Organ-Specific Cancer Metabolism and Its Potential for Therapy Ilaria: Adipokines and the Endocrine Role of Adipose Tissues. **Handbook of Experimental Pharmacology**. . ISSN 0171-2004. January (2015) 251–263. doi: 10.1007/164.

ERBS, Sandra *et al.* - High-dose rosuvastatin in chronic heart failure promotes vasculogenesis, corrects endothelial function, and improves cardiac remodeling - Results from a randomized, double-blind, and placebo-controlled study. **International Journal of**

Cardiology. . ISSN 01675273. 146:1 (2011) 56–63. doi: 10.1016/j.ijcard.2010.02.019.

FARILLA, Loredana *et al.* - Glucagon-like peptide-1 promotes islet cell growth and inhibits apoptosis in Zucker diabetic rats. **Endocrinology**. . ISSN 00137227. 143:11 (2002) 4397–4408. doi: 10.1210/en.2002-220405.

FRANTANTONIO, Deborah *et al.* - Cyanidin-3-O-glucoside ameliorates palmitate-induced insulin resistance by modulating IRS-1 phosphorylation and release of endothelial derived vasoactive factors. **Biochimica et biophysica acta. Molecular and cell biology of lipids**. . ISSN 1388-1981. 1862:3 (2017) 351–357. doi: 10.1016/j.BBALIP.2016.12.008.

FY, Li *et al.* - Endothelium-selective activation of AMP-activated protein kinase prevents diabetes mellitus-induced impairment in vascular function and reendothelialization via induction of heme oxygenase-1 in mice. **Circulation**. . ISSN 1524-4539. 126:10 (2012) 1267–1277. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.108159.

G, Rakipovski *et al.* - The GLP-1 Analogs Liraglutide and Semaglutide Reduce Atherosclerosis in ApoE ^{-/-} and LDLr ^{-/-} Mice by a Mechanism That Includes Inflammatory Pathways. **JACC. Basic to translational science**. . ISSN 2452-302X. 3:6 (2018) 844–857. doi: 10.1016/J.JACBTS.2018.09.004.

GABRIEL, Fernanda C.; FANTUZZI, Giamila - The association of short-chain fatty acids and leptin metabolism: a systematic review. **Nutrition Research**. . ISSN 18790739. 72: (2019) 18–35. doi: 10.1016/j.nutres.2019.08.006.

GARCÍA-PRIETO, Concha F. *et al.* - High-fat diet induces endothelial dysfunction through a down-regulation of the endothelial AMPK-PI3K-Akt-eNOS pathway. **Molecular Nutrition and Food Research**. . ISSN 16134133. 59:3 (2015) 520–532. doi: 10.1002/mnfr.201400539.

GENG, Jianan *et al.* - Rosuvastatin protects against endothelial cell apoptosis in vitro and alleviates atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice by suppressing endoplasmic reticulum stress. **Experimental and Therapeutic Medicine**. . ISSN 1792-0981. 20:1 (2020) 550–560. doi: 10.3892/etm.2020.8733.

GHOSH, Arijit *et al.* - Role of free fatty acids in endothelial dysfunction. **Journal of Biomedical Science**. . ISSN 14230127. 24:1 (2017) 1–15. doi: 10.1186/s12929-017-0357-5.

HARRIS, K. B.; BOLAND, C. L. - Adjunctive Role of Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists in the Management of Type 1 Diabetes Mellitus. *Pharmacotherapy*: **The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**. ISSN 02770008, 36(9) (2016) 1011–1020. doi: 10.1002/phar.1804.

HU, Lidong *et al.* - Dysfunction and Therapeutic Potential of Endothelial Progenitor Cells in Diabetes Mellitus. **Journal of Clinical Medicine Research**. . ISSN 1918-3003. 10:10 (2018) 752–757. doi: 10.14740/jocmr3581w.

K, Liu *et al.* - Diosgenin ameliorates palmitate-induced endothelial dysfunction and insulin resistance via blocking IKK β and IRS-1 pathways. **Atherosclerosis**. . ISSN 0021-9150. 223:2 (2012) 350–358. doi: 10.1016/J.ATHEROSCLEROSIS.2012.06.012.

K, Pabreja *et al.* - Molecular mechanisms underlying physiological and receptor pleiotropic effects mediated by GLP-1R activation. **British journal of pharmacology**. . ISSN 1476-5381. 171:5 (2014) 1114–1128. doi: 10.1111/BPH.12313.

KANG, Y. M.; JUNG, C. H. - Cardiovascular Effects of Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists. **Endocrinology and Metabolism**. ISSN 2093-596X, 31(2), (2016) 258. doi: 10.3803/EnM.2016.31.2.258.

KIM, Minsuk *et al.* - GLP-1 receptor activation and Epac2 link atrial natriuretic peptide secretion to control of blood pressure. **Nature Medicine**. . ISSN 10788956. 19:5 (2013) 567–575. doi: 10.1038/nm.3128.

KIMURA, Ikuo *et al.* - Free fatty acid receptors in health and disease. **Physiological Reviews**. . ISSN 15221210. 100:1 (2020) 171–210. doi: 10.1152/physrev.00041.2018.

KNUDSEN, Lotte Bjerre; LAU, Jesper - The discovery and development of liraglutide and semaglutide. **Frontiers in Endocrinology**. . ISSN 16642392. 10:APR (2019). doi: 10.3389/fendo.2019.00155.

KRÜGER-GENGE, Anne *et al.* - Vascular endothelial cell biology: An update. **International Journal of Molecular Sciences**. . ISSN 14220067. 20:18 (2019). doi: 10.3390/ijms201844111.

L, Wang *et al.* - Enhancement of endothelial permeability by free fatty acid through lysosomal cathepsin B-mediated Nlrp3 inflammasome activation. **Oncotarget**. . ISSN 1949-2553. 7:45 (2016) 73229–73241. doi: 10.18632/ONCOTARGET.12302.

LI, Nana *et al.* - Liraglutide ameliorates palmitate-induced endothelial dysfunction through activating AMPK and reversing leptin resistance. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. . ISSN 10902104. 478:1 (2016) 46–52. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.07.095.

LORENZATI, Bartolomeo *et al.* - Oral hypoglycemic drugs: Pathophysiological basis of their mechanism of action. **Pharmaceuticals**. . ISSN 14248247. 3:9 (2010) 3005–3020. doi: 10.3390/ph3093005.

LOVSHIN, Julie; CHERNEY, David - GLP-1r agonists and endothelial dysfunction: More than just glucose lowering? **Diabetes**. . ISSN 1939327X. 64:7 (2015) 2319–2321. doi: 10.2337/db15-0366.

LU, Yunxia *et al.* - Endoplasmic reticulum stress involved in high-fat diet and palmitic acid-induced vascular damages and fenofibrate intervention. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. . ISSN 10902104. 458:1 (2015) 1–7. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.12.123.

MA, Qiang - Role of Nrf2 in oxidative stress and toxicity. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**. . ISSN 03621642. 53: (2013) 401–426. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-011112-140320.

MIELENZ, M - Invited review: nutrient-sensing receptors for free fatty acids and hydroxycarboxylic acids in farm animals. **Animal: an international journal of animal bioscience**. . ISSN 1751-732X. 11:6 (2017) 1008–1016. doi: 10.1017/S175173111600238X.

MINAMI, Takashi; MURAMATSU, Masashi; KUME, Tsutomu - Organ/tissue-specific vascular endothelial cell heterogeneity in health and disease. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**. . ISSN 13475215. 42:10 (2019) 1609–1619. doi: 10.1248/bpb.19-00531.

MIRAVET-JIMÉNEZ, S. *et al.* - Management of type 2 diabetes mellitus in adolescents and young adults in primary care. **Semergen**. . ISSN 15788865. 46:6 (2020) 415–424. doi: 10.1016/j.semerg.2019.11.008.

MS, Shah; M, Brownlee - Molecular and Cellular Mechanisms of Cardiovascular Disorders in Diabetes. **Circulation research**. . ISSN 1524-4571. 118:11 (2016) 1808–1829. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.306923.

MÜNZEL, Thomas *et al.* - Vascular consequences of endothelial nitric oxide synthase uncoupling for the activity and expression of the soluble guanylyl cyclase and the CGMP-dependent protein kinase. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**. 25:8 (2005) 1551–1557. doi: 10.1161/01.ATV.0000168896.64927.BB.

NEMOTO, Shingo *et al.* - Losartan improves aortic endothelium-dependent relaxation via proline-rich tyrosine kinase 2/Src/Akt pathway in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**. 301: (2011) 2383–2394. doi: 10.1152/ajpheart.00178.2011.-ln.

NISHIKAWA, Shin Ichi *et al.* - Cell biology of vascular endothelial cells. **Annals of the New York Academy of Sciences**. . ISSN 00778923. 947: (2001) 35–41. doi: 10.1111/j.1749-6632.2001.tb03928.x.

POTENZA, Maria *et al.* - Endothelial Dysfunction in Diabetes: From Mechanisms to Therapeutic Targets. **Current Medicinal Chemistry**. . ISSN 09298673. 16:1 (2008) 94–112. doi: 10.2174/092986709787002853.

POZNYAK, Anastasia V. *et al.* - NLPR3 Inflammasomes and Their Significance for Atherosclerosis. **Biomedicines**. . ISSN 2227-9059. 8:7 (2020) 205. doi: 10.3390/biomedicines8070205.

SALA, Lucia LA; PRATTICHIZZO, Francesco; CERIELLO, Antonio - The link between diabetes and atherosclerosis. **European Journal of Preventive Cardiology**. . ISSN 20474881. 26:2_suppl (2019) 15–24. doi: 10.1177/2047487319878373.

SALTIEL, Alan R.; KAHN, C. Ronald - Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Nature**. . ISSN 00280836. 414:6865 (2001) 799–806. doi: 10.1038/414799a.

SENA, Cristina M. *et al.* - Diabetes mellitus: new challenges and innovative therapies. **The EPMA Journal**. 1:1 (2010) 138. doi: 10.1007/S13167-010-0010-9.

SHANKAR, Sudha S. *et al.* - L-carnitine may attenuate free fatty acid-induced endothelial dysfunction. **Annals of the New York Academy of Sciences**. . ISSN 00778923. 1033: (2004) 189–197. doi: 10.1196/annals.1320.018.

SHARMA, Abhinav; VERMA, Subodh - Mechanisms by Which Glucagon-Like-Peptide-1 Receptor Agonists and Sodium-Glucose Cotransporter-2 Inhibitors Reduce Cardiovascular Risk in Adults With Type 2 Diabetes Mellitus. **Canadian Journal of Diabetes**. . ISSN 23523840. 44:1 (2020) 93–102. doi: 10.1016/j.cjcd.2019.09.003.

SHI, Yi; VANHOUTTE, Paul M. - Macro- and microvascular endothelial dysfunction in diabetes. **Journal of Diabetes**. . ISSN 17530407. 9:5 (2017) 434–449. doi: 10.1111/1753-0407.12521.

SMILOWITZ, Nathaniel R.; DONNINO, Robert; SCHWARTZBARD, Arthur - Glucagon-like peptide-1 receptor agonists for diabetes mellitus: A role in cardiovascular disease. **Circulation**. . ISSN 15244539. 129:22 (2014) 2305–2312. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.006985.

STORNILOLO, *et al.* - Polyphenol fraction of extra virgin olive oil protects against

endothelial dysfunction induced by high glucose and free fatty acids through modulation of nitric oxide and endothelin-1. **Redox biology**. . ISSN 2213-2317. 2:1 (2014) 971–977. doi: 10.1016/j.REDOX.2014.07.001.

SZMITKO, Paul E.; LEITER, Lawrence A.; VERMA, Subodh - The incretin system and cardiometabolic disease. **Canadian Journal of Cardiology**. . ISSN 0828282X. 26:2 (2010) 87–95. doi: 10.1016/S0828-282X(10)70010-6.

TAKEDA, Yusuke *et al.* - Endothelial dysfunction in diabetes. **Biomedicines**. . ISSN 22279059. 8:8 (2020). doi: 10.3390/BIOMEDICINES8070182.

THUM, Thomas *et al.* - Endothelial nitric oxide synthase uncoupling impairs endothelial progenitor cell mobilization and function in diabetes. **Diabetes**. 56:3 (2007) 666–674. doi: 10.2337/DB06-0699.

VANHOUTTE, P. M. *et al.* - Endothelial dysfunction and vascular disease – a 30th anniversary update. **Acta Physiologica**. . ISSN 17481716. 219:1 (2017) 22–96. doi: 10.1111/apha.12646.

YANG, Jian *et al.* - Long Noncoding RNA MEG3 Negatively Regulates Proliferation and Angiogenesis in Vascular Endothelial Cells. **DNA and Cell Biology**. . ISSN 15577430. 36:6 (2017) 475–481. doi: 10.1089/dna.2017.3682.

YANG, Rui Xue *et al.* - Danshensu protects vascular endothelia in a rat model of hyperhomocysteinemia. **Acta Pharmacologica Sinica**. 31:10 (2010) 1395–1400. doi: 10.1038/APS.2010.167.

YONEZAWA, Tomo *et al.* - Free Fatty Acids-Sensing G Protein-Coupled Receptors in Drug Targeting and Therapeutics. **Current Medicinal Chemistry**. 20: (2013) 3855–3871.

YOON, Michung - The role of PPAR α in lipid metabolism and obesity: Focusing on the effects of estrogen on PPAR α actions. **Pharmacological Research**. . ISSN 10436618. 60:3 (2009) 151–159. doi: 10.1016/j.phrs.2009.02.004.

Wan, Z *et al.* - NLRP3 inflammasome promotes diabetes-induced endothelial inflammation and atherosclerosis. **Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy**. . ISSN 1178-7007. 12: (2019) 1931–1942. doi: 10.2147/DMSO.S222053.

ZHENG, Sean L. *et al.* - Association between use of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors, glucagon-like peptide 1 agonists, and dipeptidyl peptidase 4 inhibitors with all-cause mortality in patients with type 2 diabetes a systematic review and meta-analysis. **JAMA** -

Journal of the American Medical Association. . ISSN 15383598. 319:15 (2018) 1580–1591. doi: 10.1001/jama.2018.3024.