

**BPC157: Descoberta, aplicações terapêuticas
e abordagem toxicológica**
Experiência Profissionalizante na vertente de Investigação e
Farmácia Comunitária

Rita Isabel da Silva Gonçalves

Relatório de estágio para obtenção do Grau de Mestre em
Ciências Farmacêuticas
(mestrado integrado)

Orientador: Prof. Doutora Maria Eugenia Gallardo Alba

janeiro de 2021

Dedicatória

“Veni, Vidi, Vici” Júlio César

Agradecimentos

O encerramento de um capítulo é sempre um momento de emoções fortes: O sentimento de dever cumprido e a recordação das memórias partilhadas, por tantos, em momentos de alegria e outros de sofrimento. O meu percurso foi longo e nem sempre o mais fácil, mas chegou a hora de partir para outra aventura, outra etapa. E claro, não podia deixar de agradecer a todos aqueles que, de alguma forma, participaram do meu percurso académico.

Em primeiro lugar, agradeço à Covilhã, cidade que me acolheu e que tão bem me tratou ao longo de todos estes anos e aos covilhanenses. O que seria dela sem as pessoas que nela habitam e que fazem dela uma cidade tão preparada para receber. Agradeço também à Universidade da Beira Interior, concretamente à Faculdade de Ciências da Saúde e a todos os docentes do Curso de Ciências Farmacêuticas. Todos eles contribuíram para a minha formação, não só, como farmacêutica, como também na moldagem do meu carácter enquanto pessoa e profissional de saúde. Espero vir a ser uma referência e um acréscimo ao bom nome da instituição e uma mais valia, na representação da profissão farmacêutica.

Em particular, gostaria de agradecer à minha orientadora, Prof. Doutora Eugenia Gallardo, que me guiou durante a elaboração da dissertação, por ouvir as minhas preocupações e dúvidas e me ter ajudado a ultrapassar cada obstáculo.

À Farmácia da Praça, em nome da Dra. Maria Berta Pereira e a todos os profissionais que nela trabalham, por terem sido tão bons professores e por me terem tratado com tanto respeito. Obrigada pelo profissionalismo, todos os dias demonstrado, e por me receberem de braços abertos. Espero um dia estar à altura do incrível desafio, que é ser Farmacêutica, e fazê-lo com a mesma distinção que os profissionais com os quais tive contacto na Farmácia da Praça.

Aos meus amigos e colegas de curso, pelas manhãs, tardes e noites de estudo, pelos apontamentos partilhados e pelos momentos de amena cavaqueira que dão força aos dias mais cinzentos e às fases mais difíceis deste percurso. A estes, acrescento todos aqueles, com quem criei uma ligação, independentemente do curso, a que pertenceram ou pertencem. Tenho a certeza que a minha passagem pela Covilhã, sem eles, seria bem menos marcante.

Aos meus amigos de Guimarães, agradeço a paciência, por nem sempre poder estar presente nos convívios e cafés, por todas as chamadas e mensagens e por me darem sempre força para continuar. Em particular, agradeço à minha amiga Viviane Leite, que acompanhou o processo de aprendizagem e construção desta monografia e que incansavelmente me ajudou em tudo quanto esteve ao seu alcance.

Ao Manuel Pedro Vasconcelos, por me ter ajudado a encontrar o tema deste relatório, por ter sido o meu mentor em tantas matérias de interesse, por ter sido meu amigo e companheiro e por me fazer redescobrir os meus interesses profissionais e pessoais. A ele, o meu sincero agradecimento.

À Patrícia e ao David, agradeço o apoio. Agradeço os conselhos prestados nos momentos cruciais, por serem mais do que amigos, por terem sempre uma palavra de ânimo, nos dias em que as forças falham e por nunca se esquecerem de mim. À Tânia agradeço a ajuda nos imprevistos desta tese e o privilégio de a ter conhecido. Estou ansiosa por ver-vos concluir os vossos cursos e brilhar nos caminhos que escolherem para as vossas vidas.

Por último, mas não menos importante, agradeço, de coração, à minha família, pela ligação insubstituível e incomparável que nos une uns aos outros, pela força, pelo colo e pelo amor que sempre me deram. Esta vitória não é minha, é nossa. Individualmente, agradeço ao meu irmão Ricardo, por ser o abraço mais aconchegante quando regressava a casa; à minha irmã mais nova, Xana, pelas conversas intermináveis e a coragem de acreditar sempre nas minhas capacidades; à minha irmã Sofia, por ser o meu modelo de determinação, como farmacêutica e como pessoa; ao Vitor pelo apoio, nas horas certas, e à minha sobrinha, por me demonstrar que tudo é possível, mesmo no meio das adversidades.

Ao meu pai, agradeço as brincadeiras que ajudaram a suavizar as épocas de exame; à minha tia avó (Tia Micas) e à minha avó (Rosa), por serem mulheres de garra e de determinação.

E, para finalizar, queria fazer um agradecimento muito especial à mulher da minha vida, a minha mãe. A minha melhor conselheira, o meu pilar, a pessoa que me ama e apoia incondicionalmente e que é o meu maior exemplo, em todas as vertentes da vida. Foram muitas as minhas dúvidas, cujas respostas encontrei na sabedoria dela. Por isto tudo, pelo mimo, pela educação que me deu e pela incansável paciência de mãe, o meu mais sentido obrigada.

A todos eles, agradeço, no coletivo e de forma individual, e espero um dia poder deixá-los orgulhosos, na medida do orgulho que sinto por eles!

Resumo

O presente relatório insere-se na unidade curricular “Estágio” do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas e está dividida em dois capítulos referentes ao trabalho de investigação no âmbito da descoberta, possíveis utilizações e abordagem toxicológica de BPC157 e ao estágio em Farmácia Comunitária.

No primeiro capítulo, contempla toda a informação reunida relativa à descoberta, desenvolvimento, aplicações terapêuticas e abordagem toxicológicas do BPC157. O BPC157 é um pentadecapéptido, estável no suco gástrico, constituído por 15 aminoácidos. É considerado um mediador da citoproteção/citoproteção adaptativa/organoproteção, resistindo ao *stress* provocado por vários agentes nocivos. Tem interação com várias moléculas, como a serotonina, dopamina e o óxido nítrico. Os seus efeitos manifestam-se em vários sistemas, contribuindo assim para a homeostase. O seu efeito pró-angiogénico reflete-se na promoção da cicatrização de vários tecidos, através da interação com os fatores de crescimento endotelial. Atua no trato gastrointestinal, mantendo a integridade gástrica. Neutraliza os efeitos tóxicos dos anti-inflamatórios não esteroides e do álcool, no epitélio gástrico e noutros epitélios. Combate a letalidade de certos distúrbios cardiovasculares. Apresenta um efeito cardioprotetor e neuroprotetor. É usado de forma profilática e terapêutica, em lesões, revertendo a caquexia associada ao cancro, bem como, a perda muscular e ainda diminui a inflamação. É no âmbito desta matéria que surge a seguinte revisão, com o objetivo claro de recolher a máxima informação acerca do BPC157, esclarecer os seus mecanismos e avaliar o seu perfil toxicológico. Para tal, foi realizada uma pesquisa nas bases de dados *PubMed*, *Google Scholar* e *Europe PMC*, de onde se retirou literatura científica sobre esta molécula. Foi possível concluir que o pentadecapéptido pode ser uma aposta promissora no tratamento e prevenção de certas patologias e que, até agora, não se verificam entraves toxicológicos à sua utilização, apresentando um perfil seguro. No entanto, é necessário a realização de mais estudos, que permitam esclarecer alguns mecanismos de ação, ainda desconhecidos, e a realização de ensaios clínicos, a fim de avaliar se os resultados convergem com os extrapolados dos ensaios realizados em animais e em culturas celulares.

No segundo capítulo, encontram-se descritas as atividades desenvolvidas ao longo do estágio em Farmácia Comunitária, na Farmácia da Praça, em Guimarães, que decorreu entre fevereiro e agosto de 2020. Este estágio permitiu solidificar todos os

conhecimentos adquiridos ao longo do curso e desenvolver competências relacionadas com a prática farmacêutica.

Palavras-Chave

BPC157; Pentadecapéptido; Propriedades terapêuticas; Avaliação toxicológica; Farmácia Comunitária.

Abstract

The present document is part of the curricular unit “Internship” of the Integrated Master’s Degree in Pharmaceutical Sciences and it is divided into two chapters; one is related to the research work in the scope of the discovery, possible uses and toxicological approach of BPC157, and the other to the internship in Community Pharmacy.

In the first chapter, all the information gathered regarding the discovery, development, therapeutic applications and toxicological approach of BPC157 is included. BPC157 is a pentadecapeptide stable in the gastric environment, consisting of 15 amino acids. It is considered a mediator of cytoprotection / adaptive cytoprotection / organoprotection, resisting the *stress* caused by various harmful agents. It has interaction with several molecules pathways, such as serotonin, dopamine and nitric oxide. Its effects are manifested in several systems, thus contributing to homeostasis. Its pro-angiogenic effect is reflected in promoting the healing of various tissues, through interaction with endothelial growth factors. It acts in the gastrointestinal tract, maintaining gastric integrity. In addition, it neutralizes the toxic effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs and alcohol on gastric epithelium and other epitheliums, and decreases the lethality associated to certain cardiovascular disorders. It has cardioprotective and neuroprotective effects. It is used prophylactically and therapeutically in injuries, reversing cancer-associated cachexia, as well as muscle loss, and decreases inflammation. It is within the scope of this matter that the following review appears, with the clear aim of collecting the maximum information about BPC157, clarifying its mechanisms and assessing its toxicological profile. In order to do this, search was conducted in the databases *PubMed*, *Google Scholar* and *Europe PMC*, from which articles were extracted. In summary, this pentadecapeptide can be a promising wager in the treatment and prevention of certain pathologies. Until now, there are no toxicological barriers to its use, presenting a safe profile. However, further studies are needed to clarify some mechanisms of action (still unknown), as well as clinical trials, to assess whether or not the results converge with those extrapolated from tests performed on animals and cell cultures.

The second chapter describes the activities developed during the internship in Community Pharmacy, at Farmácia da Praça (Guimarães), which took place between February and August 2020. This internship allowed solidifying all the knowledge acquired during the course and also developing skills related to pharmaceutical practice.

Keywords

BPC157; Pentadecapeptide; Therapeutic properties; Toxicological evaluation;
Community Pharmacy.

Índice

Capítulo 1 - BPC157: Descoberta, aplicações terapêuticas e abordagem toxicológica	1
<i>Introdução</i>	1
<i>Objetivos</i>	2
<i>Material e métodos</i>	2
1. <i>Relação do BPC157 com o sistema do óxido nítrico</i>	4
1.1. O que é o óxido nítrico?	4
1.1.1. Origem biológica.....	4
1.1.2. Funções biológicas.....	5
1.2. Interação com o BPC157	5
1.2.1. Distúrbios cardiovasculares: interação NO – BPC157	6
2. <i>Citoproteção/Organoproteção</i>	8
2.1. Citoproteção adaptativa e o BPC157.....	9
2.2. O papel do BPC157 na neutralização da toxicidade provocada por AINEs.12	
2.2.1. Ibuprofeno	12
2.2.2. Celecoxib.....	13
2.2.3. Diclofenac	14
3. <i>BPC157 e a angiogénese</i>	15
3.1. O que é a angiogénese.....	15
3.2. Efeito pró-angiogénico do BPC157	16
3.2.1 Aplicação do efeito pró-angiogénico do BPC157 no tratamento de diversas patologias	20
3.3. Vantagens do BPC157 em relação aos fatores de crescimento	23
4. <i>O efeito do BPC157 no trato gastrointestinal</i>	26
4.1. Integridade da mucosa e a dopamina.....	26
4.2. Efeito do BPC157 na motilidade intestinal	26
4.3. Efeito do BPC157 nas patologias do trato gastrointestinal.....	29
4.3.1. Periodontite	29
4.3.2. Fístulas enterocutâneas	29
4.3.3. Úlceras pépticas.....	31
4.3.4. Síndrome do intestino curto	36
4.3.5. Doença inflamatória intestinal.....	37
5. <i>Eixo Intestino-Cérebro</i>	39
5.1. Serotonina	39

5.2.	Efeito Neuroprotetor	40
6.	<i>Abordagem toxicológica</i>	41
6.1.	Ensaio Pré-clínico da segurança de BPC157.....	42
6.1.1.	Toxicidade em dose única.....	42
6.1.2.	Toxicidade em dose repetida	42
6.1.3.	Tolerância local.....	43
6.1.4.	Anafilaxia sistémica ativa e passiva (pele).....	43
6.1.5.	Teste de Ames	43
6.1.6.	Teste de micronúcleo e de anomalias cromossómicas, na medula óssea 44	
6.1.7.	Teste de teratogenicidade.....	44
	<i>Conclusão</i>	45
	<i>Referências</i>	46
Capítulo 2 – Estágio em Farmácia Comunitária		51
	<i>Introdução</i>	51
1.	<i>Organização e caracterização da Farmácia:</i>	51
1.1.	Enquadramento e localização.....	51
1.2.	Espaço Físico da Farmácia	51
1.2.1.	Espaço Exterior	51
1.2.2.	Espaço Interior	52
1.3.	Recursos Informáticos:.....	55
1.4.	Quadro e funções do pessoal da Farmácia	55
1.5.	Horário de funcionamento	56
2.	<i>Medicamentos e outros produtos de saúde</i>	57
3.	<i>Aprovisionamento e Armazenamento</i>	57
3.1.	Seleção de Fornecedores.....	57
3.2.	Aquisição dos medicamentos e produtos de saúde	58
3.3.	Receção de Encomendas	60
3.4.	Devoluções de medicamentos e produtos de saúde e regularização de devoluções	62
3.5.	Armazenamento de medicamentos e produtos de saúde	63
3.6.	Controlo de prazos de validade.....	64
4.	<i>Dispensa de medicamentos e outros produtos de saúde</i>	65
4.1.	Dispensa de MSRM	66
4.1.1.	Prescrição Médica.....	66

4.1.2. Prescrição e dispensa de Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos (MEPs).....	69
4.1.3. Organismos e Comparticipação de MSRM.....	70
4.1.4. Conferência e fecho de receituário e faturação.....	71
4.2. Dispensa de MNSRM	71
4.3. Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde	72
5. <i>Serviços e outros cuidados de saúde prestados na farmácia</i>	75
5.1. Determinação dos parâmetros bioquímicos e fisiológicos	75
5.2. Administração de Injetáveis	76
5.3. Kit Troca de Seringas.....	76
5.4. Teste NADAL®.....	77
5.4.1. Princípios do Teste	77
5.4.2. Protocolo.....	77
5.4.3. Resultados	78
5.4.4. Interpretações e Significado Clínico.....	79
6. <i>Preparação de Medicamentos</i>	82
<i>Referências</i>	83
<i>Anexos</i>	86
Anexo 1	86
Anexo 2	86

Lista de Figuras

Capítulo 1

Figura 1- Estrutura BPC157.[4]	1
Figura 2- Síntese do óxido nítrico[8]	4
Figura 3- Efeito citoprotetor e organoprotetor de BPC157.[5]	8
Figura 4- Área de lesão induzida pela aplicação intragástrica de 1mL/rato de etanol a 96% (irritante exógeno).[16]	10
Figura 5- Área de lesão induzida pela aplicação intragástrica de 1mL/rato de etanol a 20% (irritante exógeno).[16]	10
Figura 6- Área de lesão induzida por cirurgia (irritante endógeno).[16]	11
Figura 7- Efeito do BPC157 no número de vasos.[2]	17
Figura 8- Efeito do BPC157 na formação de tubo.[2]	17
Figura 9- Efeito do BPC157 na recuperação do fluxo sanguíneo.[2]	18
Figura 10- Efeito do BPC157 na expressão do VEGF e do VEGFR-2.[2]	19
Figura 11- Efeito do BPC157 na cicatrização de lesões causadas por queimaduras químicas.[26]	22
Figura 12- Efeito do BPC157 na proliferação celular.[26]	23
Figura 13- Volume do tumor no grupo de controlo e no grupo administrado com BPC157.[27]	25
Figura 14- Taxa de sobrevivências das células gliais entéricas.[31]	29
Figura 15- Modelos utilizados por Xue XC et al para simular as condições de uma úlcera péptica.[38]	35

Capítulo 2

Figura 1- Teste NADAL®	78
Figura 2- Desenvolvimento das imunoglobulinas durante infeção por SARS-CoV-2 [29]	79

Lista de Tabelas

Capítulo 1

Tabela 1- Grupos usados na experiência de Tonglie et al.[26]	21
--------------------------------------------------------------------	----

Capítulo 2

Tabela 1- Descrição do horário de realização e chegada de encomendas	60
Tabela 2- Valores de referência dos Parâmetros Bioquímicos e da Tensão Arterial [22][23][24]	76
Tabela 3- Possíveis resultados do Teste NADAL®	79

Lista de equações

Capítulo 1

Equação 1– Fórmula da percentagem de ferida.[26]	21
--------------------------------------------------------	----

Lista de Acrónimos

Capítulo 1

5HT	Serotonina
AINE	Anti-inflamatório não esteroide
AV	Auriculoventricular
BPC	Body Protection Compound
CAM	Membrana corioalantóide do embrião da galinha
COX	Ciclo - oxigenase
CU	Colite ulcerativa
DAP	Doença arterial periférica
DC	Doença de Crohn
DII	Doença inflamatória intestinal
DRGE	Doença do refluxo gastroesofágico
eNOS	Isoforma endotelial
FAD	Dinucleótido de flavina e adenina
FGF	Fator de crescimento de fibroblastos
FMN	Tetrahydrobiopterina, mononucleótido de flavina
Fmoc	Cloroformiato de 9-fluorenilmetila
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
HUVEC	Células endoteliais retiradas da veia umbilical humana
I.M.	Intramuscular
IBP	Inibidor da bomba de prótons
IL-6	Interleucina
iNOS	Isoforma induzível
LD₁	Dose Letal de 1%
MAO	Monoamino Oxidase
MPO	Mieloperoxidase
NADPH	Fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina
NMDA	N-metil-D-aspartato
nNOS	Isoforma neuronal
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintetase
PA	Pressão arterial
SIC	Síndrome do intestino curto
SNC	Sistema Nervoso Central
TGI	Trato gastrointestinal
Th-1	Células T auxiliares, tipo 1
TNBS	Ácido trinitrobenzenossulfônico
TNF	Fator de necrose tumoral
VEGF	Fator de crescimento endotelial
VEGFR	Recetor do fator de crescimento endotelial

Capítulo 2

BPF	Boas Práticas Farmacêuticas
CNP	Código Nacional do Produto
DCI	Denominação Comum Internacional
FEFO	First Expire - First Out
FIFO	First In - First Out
FP	Farmácia da Praça
IVA	Imposto sobre o Valor Acrescentado
MEP	Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos
MNSRM	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
MNSRMEF	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica de Dispensa Exclusiva em Farmácias
MSRM	Medicamentos Sujeitos a Receita Médica
MUV	Medicamentos de Uso Veterinário
OF	Ordem dos Farmacêuticos
PA	Pressão Arterial
PNV	Plano Nacional de Vacinação
PT	Prontuário Terapêutico
PVF	Preço de Venda à Farmácia
PVP	Preço de Venda ao Público
RAM	Reação Adversa ao Medicamento
SNS	Serviço Nacional de Saúde

Capítulo 1 - BPC157: Descoberta, aplicações terapêuticas e abordagem toxicológica

Introdução

O BPC157 (Body Protection Compound), também conhecido como BPC 15, PL-10, PLD-116 ou PL14736[1] é um pentadecapéptido, derivado de uma proteína gástrica, solúvel em água a pH neutro, composto por 15 aminoácidos, com a seguinte sequência Gly-Glu-Pro-Pro-Pro-Gly-Lys-Pro-Ala-Asp-Asp-Ala-Gly-Leu-Val, representados na figura 1. Em termos estruturais, o BPC é um composto extremamente estável, podendo existir no suco gástrico, sem ser degradado e sem a necessidade de um transportador. Não existem evidências quanto à sua dose letal, continuando desconhecidos os dados sobre a Dose Letal de 1% (LD1 - dose necessária para matar 1% da população).[2]

Foi caracterizado, pela primeira vez, em 1991, pelo Professor Predrag Sikiric e pela sua equipa de colaboradores da Universidade de Zagreb. Este deriva de uma proteína encontrada no suco gástrico, denominada Body Protection Compound. Foi obtido por condensação de aminoácidos, protegidos com cloroformiato de 9-fluorenilmetila (Fmoc), começando pela valina, ligado a um carreador polimérico (benzidrilaminoresina). Em cada etapa, o grupo de proteção Fmoc foi removido com piperidina. Todos os aminoácidos adicionais foram introduzidos usando o mesmo método até a síntese estar completa. A clivagem foi feita usando uma mistura de ácido trifluoroacético / ácido trifluorometanossulfônico / anisol (na proporção 2: 17:52) e a mistura foi purificada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).[3]

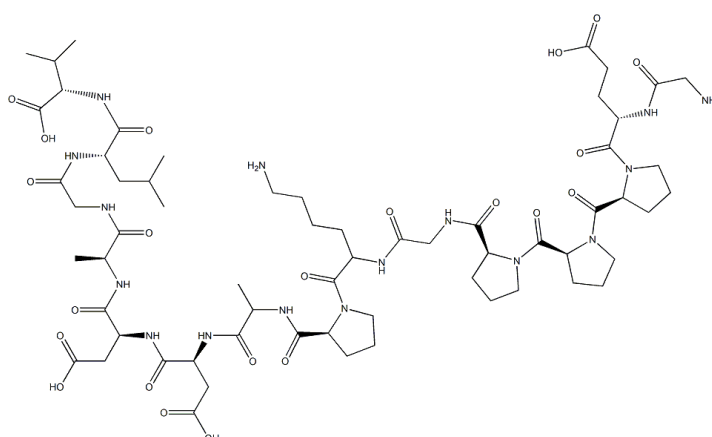


Figura 1- Estrutura BPC157. (Fonte: Chemical Book, 2017)[4]

Dado a sua vasta gama de efeitos benéficos, em vários sistemas, foi considerado um mediador da citoproteção e organoproteção, bem como, uma molécula capaz de enfrentar o *stress*. [5] [6] Embora o seu mecanismo de ação, ainda não se encontre totalmente esclarecido, sabe-se que este interage com diversas vias moleculares, que explicam o seu amplo potencial de utilização. Nomeadamente, o péptido tem implicações notáveis nos sistemas da dopamina, serotonina e óxido nítrico. É responsável pela cicatrização e regeneração de variados tecidos, pela redução da inflamação e proteção de vários órgãos contra substâncias nocivas, como os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs). [5]

São várias as formas de administração deste péptido. Entre elas a administração por via oral (diluído em água), administração intramuscular e intravenosa e aplicação cutânea. Todas estas vias são viáveis, numa concentração muito baixa, na razão dos microgramas e nanogramas. [5]

Objetivos

O objetivo do presente trabalho é realizar uma revisão sobre as características e propriedades do péptido BPC157 e as suas possíveis utilizações terapêuticas. Bem como, o esclarecimento da sua interação com determinadas moléculas e a elucidação do seu perfil toxicológico, providenciando uma visão geral e contextualizada do impacto do BPC157 no futuro da terapêutica de determinadas doenças.

Material e métodos

A presente revisão realizou-se com recurso a análise das seguintes bases de dados: *PubMed*, *Google Scholar* e *Europe PMC*. A pesquisa executada na base de dados PubMed foi mimetizada nas restantes bases de dados, tendo sido utilizados termos de pesquisa, tais como, “BPC157”, “pentadecapeptide”, “stable gastric peptide” e termos de texto livre combinados com operadores booleanos. Não se aplicou nenhum filtro à pesquisa e não se definiu nenhum limite quanto à data de publicação, uma vez que esta matéria de interesse é relativamente recente. As referências obtidas nas diferentes bases de dados foram comparadas para identificar e remover os duplicados. Os títulos e resumos de todos os artigos obtidos, a partir da pesquisa nas bases de dados, sofreram uma triagem,

com o objetivo de identificar artigos potencialmente relevantes, tendo em conta a temática em estudo.

1. Relação do BPC157 com o sistema do óxido nítrico

1.1. O que é o óxido nítrico?

O óxido nítrico (NO) é um radical livre, composto por um átomo de azoto e um átomo de oxigênio, que está envolvido em muitos processos biológicos e desempenha papéis de muita importância nos vários sistemas do corpo humano. A evidência da importância desta molécula é facilmente perceptível, uma vez que esta foi batizada com o nome de molécula do ano, em 1992.[7]

1.1.1. Origem biológica

A síntese do NO depende de uma reação de oxidação entre o azoto do terminal do aminoácido L-arginina (substrato) e o oxigênio, através da ação de uma enzima, a óxido nítrico sintetase (NOS), na presença das seguintes moléculas: tetrahydrobiopterina, mononucleótido de flavina (FMN), dinucleótido de flavina e adenina (FAD), fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina (NADPH). Reação representada pela figura 2.[7]

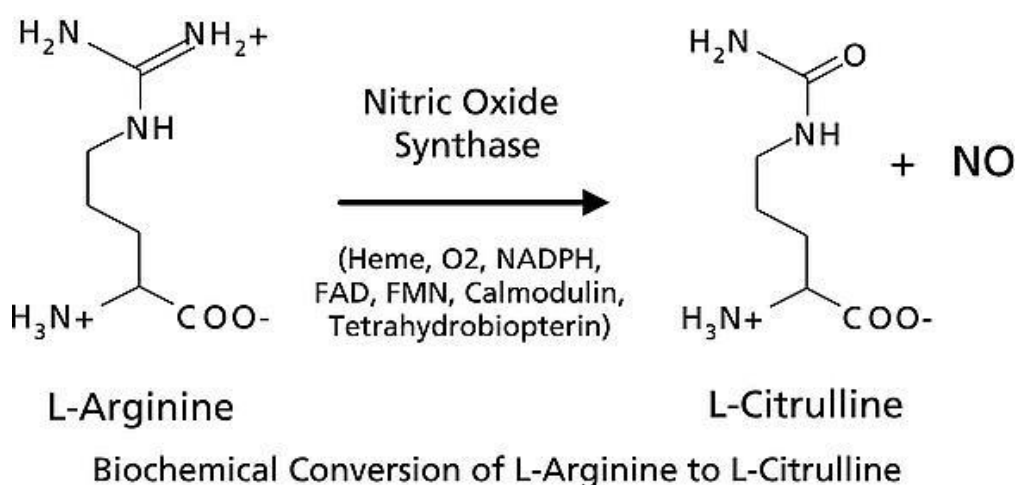


Figura 2- Síntese do óxido nítrico (Fonte: Merck, 2021) [8]

Existem três isoformas de NOS: duas delas são constitutivas, a endotelial (eNOS) e a neuronal (nNOS) e a outra é induzível (iNOS). As constitutivas estão permanentemente ativas, geram baixas concentrações de NO e as suas atividades enzimáticas são dependentes dos fluxos de cálcio intracelular ou da calmodulina exógena. As enzimas iNOS libertam mais NO do que as constitutivas e podem ser induzida por vários fatores, entre os quais, citocinas, fatores de crescimento e estimulação inflamatória.[7]

1.1.2. Funções biológicas

O NO desempenha inúmeras funções: é uma molécula de sinalização, um fator determinante da função endotelial, saúde metabólica e vascular, afetando o sistema nervoso e imunológico. Apesar do seu efeito protetor, este pode apresentar um efeito citotóxico em concentrações elevadas, induzindo a apoptose e a necrose celular. Controla muitas funções no músculo, como o metabolismo muscular, acoplamento excitação-contracção e contratilidade, crescimento celular e neurotransmissão. Aumenta a sensibilidade à insulina e o catabolismo dos ácidos gordos. Tem efeito vasodilatador e um importante papel na angiogénese. Inibe a ativação, agregação e adesão plaquetária. Os níveis fisiológicos de NO reduzem o *stress* oxidativo através da inativação da NADH/NADPH oxidase e aumentam o potencial antioxidante endógeno. No entanto, altas concentrações de NO resultam num efeito altamente pró-oxidante.[9]

1.2. Interação com o BPC157

Os dados apresentados, até à data, sugeriram que o BPC157 poderá modular o efeito do sistema do óxido nítrico, de três formas diferentes: através da anulação dos efeitos do bloqueio do sistema, induzido por um bloqueador (L-NAME); da hiperestimulação do sistema, induzida pela aplicação de substrato (L-arginina) ou da imobilização do sistema, induzida pela administração simultânea de L-NAME e L-arginina. A homeostase produzida por BPC157 pode ser retratada pelo exemplo do seu efeito na pressão arterial (PA). Normalmente este não produz efeitos na PA, no entanto neutraliza a hipotensão provocada por L-arginina e a hipertensão induzida por L-NAME.[5]

A interação entre o péptido e o radical sugere uma estreita participação na integridade vascular e no controlo das plaquetas, bem como, na citoproteção, na neutralização das lesões provocadas por AINEs e no contra-ataque aos distúrbios cardiovasculares. Por

fim, a aplicação de BPC157 normaliza os níveis de NO, nos tecidos, em resposta à formação de radicais livres.[5]

1.2.1. Distúrbios cardiovasculares: interação NO – BPC157

Foi verificado que o BPC157 neutralizou o quadro clínico apresentado em murganhos com insuficiência cardíaca congestiva, induzida pela doxorubicina [10] e reduziu a duração de arritmias e da reoxigenação, em corações isolados de porquinhos-da-índia. A atividade do óxido nítrico também envolve o sistema cardíaco, uma vez que este é um fator antifibrilatório e cardioprotetor. Assim, a combinação destes dois fatores pode ser fundamental para a cardioproteção.[11]

Balenovic *et al* propuseram que a prevenção e terapêutica de arritmias induzidas por digitálicos poderiam ser alcançadas através da administração de BPC157, por meio da interação com o sistema do NO.[11]

Para avaliar em detalhe os efeitos de BPC157, os investigadores definiram 3 tipos de protocolos experimentais:

- i. Aplicação de BPC157 isoladamente, para testar o seu potencial arritmogénico (monitorização feita durante 60 minutos após aplicação);
- ii. Aplicação de metildigoxina e BPC157:
 - a. Para testar o desenvolvimento de toxicidade cumulativa – administração profilática de BPC157 ou solução salina antes da aplicação de metildigoxina (monitorização feita durante 60 minutos após a última aplicação);
 - b. Para testar a toxicidade avançada da metildigoxina, com presença de arritmias graves - administração de BPC157 ou solução salina, 20 segundos após um bloqueio auriculoventricular (AV) de grau 3, induzido pela aplicação de metildigoxina (monitorização feita durante 60 minutos após a última aplicação ou até à morte do rato);
- iii. Aplicação de metildigoxina, BPC157, L-NAME e L-arginina
 - a. Regime metildigoxina + BPC157 + L-NAME
 - b. Regime metildigoxina + BPC157 + L-arginina

c. Regime metildigoxina + BPC157 + L-arginina + L-NAME

A utilização da metildigoxina (glicosídeo cardíaco) induziu um bloqueio auriculoventricular de grau 3 ou batimentos ventriculares prematuros e consequente taquicardia ventricular, quando administrada. O desenvolvimento de toxicidade cumulativa foi neutralizado pela administração profilática de BPC157. Este péptido (10 e 50µg/Kg) reduziu o número de batimentos ventriculares prematuros, prolongou o tempo até o início da taquicardia ventricular, reduziu a duração da taquicardia ventricular e do bloqueio AV. A aplicação de L-NAME aumentou a letalidade induzida por metildigoxina. O grupo administrado com o bloqueador do sistema do NO rapidamente desenvolveu bloqueios AV, inevitavelmente complicados por taquicardias ventriculares fatais e desfecho letal. A combinação com L-arginina reduziu estes efeitos e aplicação de BPC157 reverteu, ainda mais, a toxicidade induzida pela combinação do digitálico e de L-NAME.[11]

A conclusão a que este estudo chegou prende-se com a hipótese de que as arritmias induzidas pela toxicidade dos digitálicos são devidas a uma redução da produção de NO. Toxicidade esta, que pode ser compensada parcialmente por L-arginina e num grau superior por BPC157.[11]

Outros estudos, neste ramo, demonstraram a eficácia do pentadecapéptido. Este foi capaz de neutralizar a hipercalemia. A hipercalemia é definida como uma concentração de potássio sérico superior 5,0-5,5 mEq/L, em adultos. Níveis superiores a 7 mEq/L podem levar a consequências hemodinâmicas e neurológicas significativas. Quando estes valores ultrapassam os 8,5 mEq/L podem causar paralisia respiratória ou paragem cardíaca, resultando ser fatais. [12] Num estudo, conduzido por Barisic *et al*, foi induzida uma hipercalemia grave provocada pela administração de cloreto de potássio (>12mmol/L). As consequências provocadas pela indução desta patologia foram completamente revertidas e não se verificou nenhum resultado letal, em todos os regimes de BPC157. Pelo contrário, nos controlos, a taxa de mortalidade foi de 100%, com diminuição do tempo de vida, na utilização de L-NAME.[13]

2. Citoproteção/Organoproteção

No final dos anos 70, relacionou-se o conceito de homeostase citoprotetora de Robert[14] com o estômago. Este conceito foi estendido e considerou-se que esta citoproteção estaria relacionada com a manutenção da integridade epitelial, alargando a noção para organoproteção. Muitos anos antes, Selye[15] esteve na origem da descoberta do conceito geral de adaptação relacionado com o *stress* provocado, tanto de forma endógena, como exógena.[5]

Assim, os conceitos de citoproteção/citoproteção adaptativa e organoproteção, inserem-se dentro do conceito de homeostase e referem-se à proteção dos órgãos contra as lesões ou a recuperação dos mesmos pós-lesão. [5]

Para um agente ser considerado citoprotetor, seria necessário que este fosse eficaz tanto profilaticamente, como terapêuticamente, isto é, que protegesse a mucosa, quando administrado antes da lesão e que potenciase a recuperação, quando administrado após a lesão. Ao contrário dos agentes padrão (prostaglandinas, somatostatina, sulfidrilos), a atividade do BPC157 satisfaz ambas as condições.[5] É possível perceber como funciona a resposta citoprotetora e organoprotetora do péptido através da figura 3:

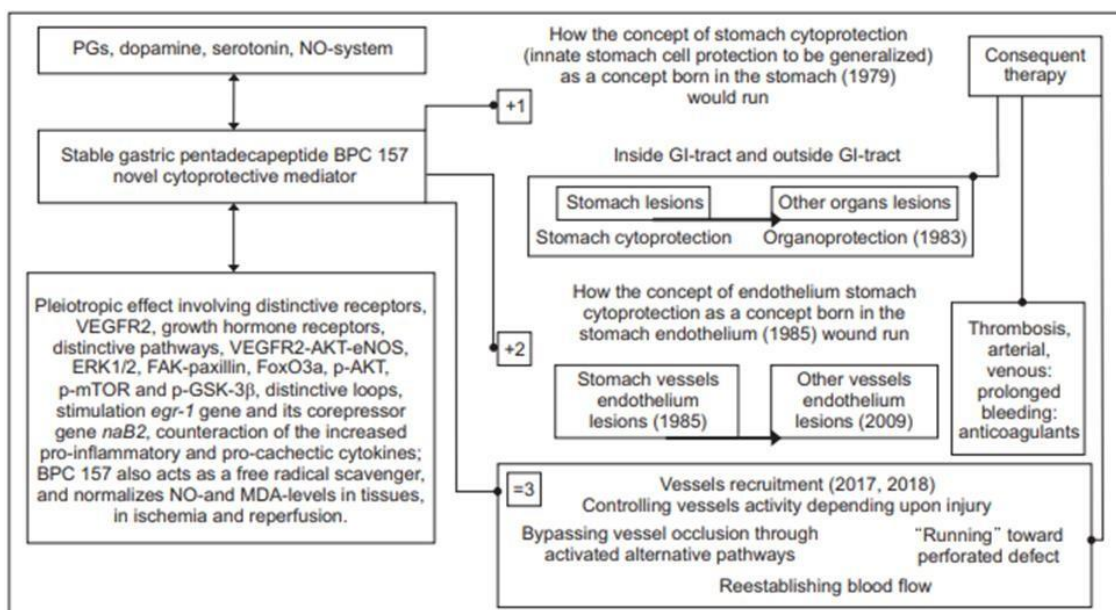


Figura 3- Efeito citoprotetor e organoprotetor de BPC157: +1 representa a capacidade citoprotetora (no estômago) de BPC157, que se alarga a todo o trato gastrointestinal (organoproteção). Esta característica do BPC157 advém de uma interação e modulação do sistema do NO, bem como a sua interação com as prostaglandinas, dopamina e serotonina, da sua ação como neutralizador dos radicais livres e da sua interação com vários recetores por vias moleculares distintas; +2 representa a integridade endotelial; =3 representa o resultado das duas premissas anteriores, sendo que juntas permitem a ativação dos vasos sanguíneos, durante uma lesão, oclusão de um vaso ou perfuração de um órgão, de forma a contornar estas lesões e permitir uma cicatrização mais rápida. (Fonte: Sikiric *et al*, 2020)[5]

Assim, o péptido é considerado um mediador da citoproteção e organoproteção de Robert e um mediador da resposta anti-stress de Sleye, ajudando a restabelecer a homeostase. Muitos podem ser os agentes nocivos (endógenos e exógenos) que provocam a destabilização do nosso organismo, tais como:

- Etanol;
- AINEs;
- Lesões endoteliais provocadas por cirurgia;[5]

2.1. Citoproteção adaptativa e o BPC157

O efeito de citoproteção e de citoproteção adaptativa foi estudado por Sikiric *et al* (1998), num estudo onde se fez a comparação da ação de alguns agentes antiulcerosos, de inibidores da síntese de prostaglandinas e da indometacina, administrados em vários momentos, durante a indução da lesão com etanol ou através da indução da anastomose gastrojejunal. Para tal, estes autores utilizaram irritantes exógenos e endógenos.[16]

Os resultados demonstram que as lesões provocadas pelo etanol a 96% (irritante exógeno) foram diminuídas após a administração de 10mg de atropina (antimuscarínico), 10mg de omeprazol (inibidor da bomba de prótons (IBP)), 10mg de ranitidina (antagonista específico dos recetores-H2 da histamina), 10ng e 10µg de BPC157 e agravadas pela administração de 5mg de indometacina (AINE), sendo que o melhor resultado foi obtido pela a utilização de BPC157 na dosagem de 10µg. Estes resultados podem ser comprovados pelo seguinte gráfico (figura 4):[16]

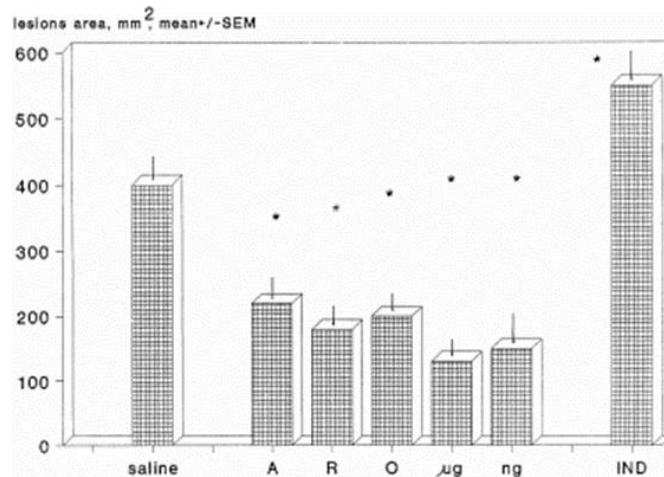


Figura 4- Área de lesão induzida pela aplicação intragástrica de 1mL/rato de etanol a 96% (irritante exógeno), avaliadas 1h depois: Saline representa a área de lesão no grupo controlo; A representa a área de lesão no grupo administrado com atropina; R representa a área de lesão no grupo administrado com ranitidina; O representa a área de lesão no grupo administrado com omeprazol; µg representa a área de lesão no grupo administrado com BPC157 (10µg); ng representa a área de lesão no grupo administrado com BPC157 (10ng) e IND representa a área de lesão no grupo administrado com indometacina. (Fonte: Sikiric *et al*, 1999)[16]

Na aplicação de etanol a 20% (figura 5), a área das lesões induzidas foi muito menor, no entanto, a administração de BPC157 (10µg) continuou a ser a mais benéfica, provocando menor lesão do que as restantes moléculas administradas.[16]

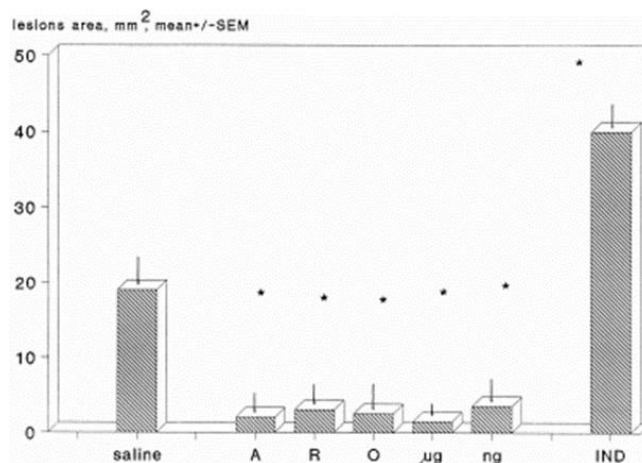


Figura 5- Área de lesão induzida pela aplicação intragástrica de 1mL/rato de etanol a 20% (irritante exógeno), avaliadas 1h depois: Saline representa a área de lesão no grupo controlo; A representa a área de lesão no grupo administrado com atropina; R representa a área de lesão no grupo administrado com ranitidina; O representa a área de lesão no grupo administrado com omeprazol; µg representa a área de lesão no grupo administrado com BPC157 (10µg); ng representa a área de lesão no grupo administrado com BPC157 (10ng) e IND representa a área de lesão no grupo administrado com indometacina. (Fonte: Sikiric *et al*, 1999)[16]

De forma a avaliar o efeito de irritantes endógenos procedeu-se ao corte do duodeno a 15cm do fim do piloro e posterior ligação direta com o estômago (figura 6). Este procedimento cirúrgico induziu a anastomose, que obriga a um aumento da acumulação de ácido gástrico e a um aumento do refluxo duodenal, provocados pela obstrução do duodeno. Estas condições mimetizaram as condições de uma úlcera. Antes deste procedimento cirúrgico, uma parte dos ratos foram submetidos à administração com indometacina (5mg). Depois da cirurgia, os restantes grupos foram tratados com atropina (10mg), omeprazol (10mg), ranitidina (10mg), BPC157 (10ng e 10µg). O que Sikiric *et al* observaram foi pouco expectável, uma vez que todos eles agravaram as lesões provocadas pela irritação endógena, com exceção do BPC157. Estas descobertas sugerem que as condições da anastomose induzida, ao provocarem um desequilíbrio gastrointestinal, podem ativar a citoproteção adaptativa endógena. Consequentemente, a administração de agentes antiulcerosos (atropina, ranitidina, omeprazol) agravou as lesões, uma vez que estes inibem a secreção de ácido gástrico. O BPC157, por outro lado, como não está envolvido na produção de ácido gástrico não revelou interferências. O que suporta a ideia de que este tem atividade citoprotetora e citoprotetora adaptativa.[16]

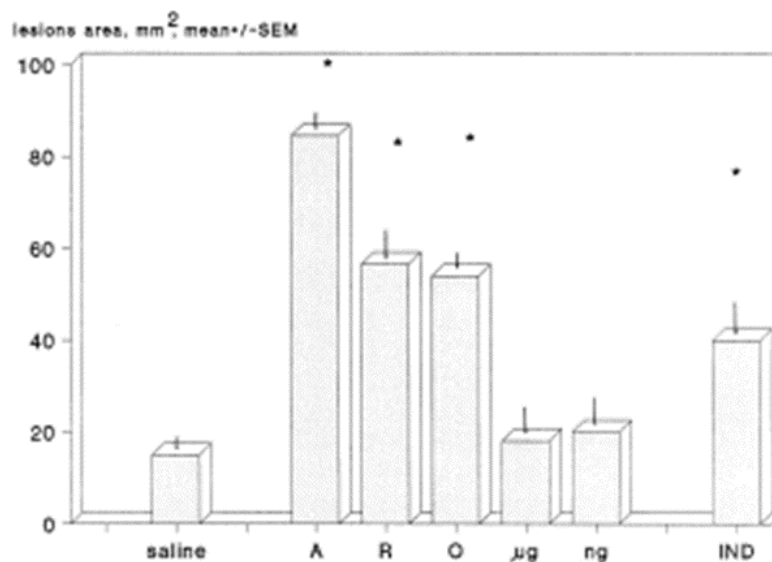


Figura 6- Área de lesão induzida por cirurgia (irritante endógeno), avaliados 24h depois: Saline representa a área de lesão no grupo controlo; A representa a área de lesão no grupo administrado com atropina; R representa a área de lesão no grupo administrado com ranitidina; O representa a área de lesão no grupo administrado com omeprazol; µg representa a área de lesão no grupo administrado com BPC157 (10µg); ng representa a área de lesão no grupo administrado com BPC157 (10ng) e IND representa a área de lesão no grupo administrado com indometacina. (Fonte: Sikiric *et al*, 1999)[16]

2.2. O papel do BPC₁₅₇ na neutralização da toxicidade provocada por AINEs

Os AINES são amplamente usados no controlo da dor baixa a moderada, na redução da inflamação e da febre, através da inibição das enzimas ciclo-oxigenase (COX). Estes são parte do tratamento de lesões musculoesqueléticas agudas, cefaleias, artralgia, dor pós-operatória, dor associada a inflamação e dor menstrual. A maioria dos AINEs são derivados de ácidos orgânicos e são rapidamente absorvidos pelo trato gastrointestinal. Sofrem um extenso metabolismo hepático e são excretados por filtração glomerular e secreção tubular. O seu uso é contraindicado em doentes com disfunção hepática e renal severa.[17]

Os efeitos adversos estão amplamente relacionados com vários sistemas: gastrointestinal, cardiovascular, renal, hepático. São responsáveis por muitas patologias e sintomas, tais como, náusea, dispepsia, dor abdominal, úlcera, redução dos efeitos citoprotectores gastrointestinais, aumento da incidência de enfarte do miocárdio e acidente vascular cerebral, aumento da pressão arterial, exacerbação da insuficiência cardíaca congestiva, necrose papilar renal e nefrite intersticial. Para além de todas estas complicações associadas ao uso de AINEs, estes também são potencialmente perigosos quando tomados concomitantemente com outros fármacos, nomeadamente, com medicamentos cujo mecanismo de ação esteja implicado na ligação às proteínas plasmáticas, ou com janela terapêutica estreita (varfarina, fenitoína). Também o aumento da toxicidade de medicamentos, que dependem da depuração renal (lítio) ou do metabolismo hepático, é influenciado pela toma de AINEs. O uso destes, em combinação com anti-hipertensivos, anticoagulantes, antiplaquetários e inibidores seletivos da recaptção da serotonina é acompanhado de interações notáveis.[17]

As repercussões da utilização de AINEs, ao nível do trato gastrointestinal, podem ser denominadas de lesões citotóxicas. Os agentes que previnem estas lesões são considerados citoprotectores.[18]

2.2.1. Ibuprofeno

A encefalopatia hepática pode ser provocada pelo uso crónico de AINEs. De forma a perceberem o mecanismo por trás desta hepatotoxicidade, Ilic *et al*, formularam um estudo, em ratos (Albino Wistar), aos quais foi administrado ibuprofeno, com a seguinte

posologia: 0,4mg/Kg, uma vez por dia, intraperitonealmente, durante 4 semanas. Parte dos ratos também recebeu BPC157 em micro e nanodoses (10µg/kg, 10ng/kg). Estas foram administradas por via intraperitoneal, diariamente, após a dose de ibuprofeno ou por via oral, em água potável (0,16µg/mL, 0,16ng/mL), desde o início da experiência e até ao final da mesma. Nos ratos do grupo controlo (não receberam BPC157) foi notável as lesões gastrointestinais, não verificadas em ratos dos grupos que receberam BPC157. Também se verificou um aumento considerável das enzimas hepáticas (aumento médio de 200% em relação aos grupos que receberam BPC157), do peso do fígado (duas vezes mais aumentado que os grupos que receberam BPC157), em comparação com o peso corporal dos ratos. No cerebelo verificou-se edema moderado e presença de isquémia neuronal, sem inflamação. Estas características não foram observadas nos ratos tratados com o péptido. Também o distúrbio comportamental foi avaliado e estabeleceu-se uma relação entre o efeito de sedação prolongada e/ou inconsciência e a administração de ibuprofeno. Este comportamento não se observou em animais que receberam o pentadecapéptido.[19]

A discussão destes resultados levou Ilic *et al* a concluírem que esta molécula, não só, reverte os possíveis efeitos tóxicos provocados pelo Ibuprofeno, como também o consegue fazer através de várias vias de administração.[19]

2.2.2. Celecoxib

Num estudo, realizado por Drmic *et al*, revelou-se a ação tóxica, provocada pela administração de celecoxib, através da disfunção do sistema do óxido nítrico. O celecoxib é bloqueador específico da ciclo-oxigenase-2 (COX-2), que quando administrado em altas doses provoca lesões gastrointestinais, hepáticas e cerebrais, em ratos (Albino Wistar).[20]

Neste estudo, em combinação com o celecoxib (1g/Kg) foi também administrado BPC157 (10µg/kg, 10ng/kg, 1ng/kg), L-arginina (100mg/Kg) e um bloqueador do sistema do óxido nítrico (L-NAME 5mg/Kg), em separado ou em combinação. Foi possível concluir que as lesões gátricas, hepáticas e cerebrais, provocadas pela administração de celecoxib, após 24h e 48h, foram neutralizadas quando em terapia combinada com BPC157. Quanto à interação entre L-NAME e celecoxib foi observada, como esperado, uma exacerbação destas lesões, que quando, em combinação com o pentadecapéptido, resultou numa atenuação das mesmas. Consistentemente, a adição de L-arginina a esta tríade resultou

num efeito marcadamente mais benéfico, do que quando apenas foi administrada L-arginina isoladamente[20]

Em conclusão, Drmic *et al* compreenderam que as lesões gástricas, cerebrais e hepáticas aconteceram pela inibição da COX-2, agravadas pela disfunção do sistema de óxido nítrico, induzida pela aplicação de um bloqueador (L-NAME). A L-arginina conseguiu reverter parte destes efeitos, mas o que se verificou mais eficaz foi a aplicação de BPC157. Este neutralizou muitas lesões ou, pelo menos, atenuou as suas circunstâncias. Não só foi possível observar a sua ação benéfica na neutralização da inibição da COX-2 pelo celecoxib. Como também, parte do seu mecanismo atua no bloqueio do sistema do óxido nítrico, tornando-se, desta forma, um concorrente ideal a ser utilizado como antídoto, para a toxicidade provocada por AINEs.[20]

2.2.3. Diclofenac

Num estudo, realizado por Ilic *et al*,[21] foi possível observar o efeito do BPC157 nas lesões provocadas pela administração de diclofenac intraperitonealmente. As consequências da aplicação deste AINE foram observadas e avaliadas em diferentes órgãos e tecidos: no trato gastrointestinal, fígado, no intestino delgado e no cérebro. Os resultados mostraram que a administração de BPC157 após a aplicação de diclofenac resolveu lesões gastrointestinais, lesões hepáticas e encefalopatia hepática. As conclusões extrapoladas destes resultados permitiram aos investigadores concluir que o BPC157 possui um efeito citoprotetor e neuroprotetor que contraria a toxicidade associada ao uso de AINEs, mais concretamente de diclofenac.[21]

Também Lojo *et al*[22] realizaram estudos com o diclofenac, com a diferença de que, nesta experiência, foi induzida a anastomose através de uma cirurgia de remoção de 80% do intestino delgado e foram testados os efeitos do BPC157, L-NAME e L-arginina. Foram avaliadas as lesões gastrointestinais, hepáticas e cerebrais. Os resultados demonstraram que a aplicação de diclofenac contribui para o agravamento da lesão provocada pela anastomose, levando ao aumento das células inflamatórias, edema e necrose. Estas repercussões foram agravadas pela combinação do diclofenac e L-NAME e atenuadas pelo tratamento com BPC157, que reverteu completamente o dano causado por L-NAME, atenuou os efeitos do anti-inflamatório e aumentou a resposta adaptativa em todas as camadas. A L-arginina reduziu o agravamento induzido por L-NAME, mas não se observou melhorias significativas quando esta foi administrada concomitantemente com o pentadecapéptido.[22]

3. BPC157 e a angiogénese

3.1. O que é a angiogénese

A angiogénese consiste no processo de desenvolvimento de novos vasos sanguíneos e é fundamental para a saúde humana, por desempenhar um importante papel na cicatrização de feridas e crescimento de tecidos. Os benefícios destas estendem-se a variados ramos da saúde e daí a importância, cada vez mais acrescida, do estudo de terapêuticas que envolvam a ativação ou inativação da mesma. Em concreto, destaca-se a utilização de terapêuticas anti-angiogénicas em cancros, uma vez que a disseminação da doença depende inerentemente da angiogénese; em situações de degeneração macular; ou em doenças diretamente relacionadas com este processo. Por outro lado, terapêuticas pró-angiogénicas podem favorecer o combate a outros tipos de patologias, como a hipoxia cerebral ou miocárdica, devido a lesões oclusivas nas artérias cerebrais ou coronárias, respetivamente.[23]

Este processo dinâmico, envolve várias etapas e depende de muitos mediadores, que induzem a ativação das células endoteliais e por conseguinte produção de proteases, degradação da membrana basal, migração das células endoteliais para o espaço intersticial, proliferação das mesmas, formação de tubos e fusão de vasos recém-formados.[2] [24]

Há muitas moléculas envolvidas nestes processos, mas dentro destas, aquelas que foram identificadas como mais significativas são os fatores de crescimento endotelial (VEGFs) e os seus recetores (VEGFRs). Os VEGF-s pertencem à família do supergene PDGF caracterizado por 8 cisteínas. Dos fatores de crescimento endotelial fazem parte 7 membros - VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, T. flavoviridis svVEGF e PIGF (fator de crescimento placentário); e apenas existem 3 a 4 recetores, dependendo da espécie de vertebrado. Cada um destes fatores tem uma função diferente e contribui para diferentes etapas. O VEGF-A contribui para a angiogénese, para a permeabilidade vascular e para a estimulação da migração celular de macrófagos e células endoteliais, ativando dois recetores - VEGFR-1 e VEGFR-2. Os fatores PIGF e VEGF-B apenas ativam os recetores VEGFR-1. Estes provaram-se dispensáveis na embriogénese. No entanto, em situações de patologia, o sinergismo entre VEGF-B e PIGF revelou-se importante na angiogénese. Para além disso, relatou-se a atividade de VEGF-B na proteção contra a degeneração de neurónios sensoriais. Os fatores VEGF-C e VEGF-D sofrem clivagem de

protéases nos terminais amino e carboxila e após processamento ativam os recetores VEGFR-3, que são expressos em células endoteliais linfáticas e estimulam o recetor da linfangiogénese. Apesar desta ser a sua principal função, estes também se ligam fracamente aos recetores VEGFR-2, o que permite uma estimulação da angiogénese, até certo ponto. O VEGF-E deriva do genoma do vírus Orf, um *parapoxvírus*. Este infeta ovelhas, cabras e, por vezes, humanos. É capaz de induzir a angiogénese em locais de infeção cutânea. O fator VEGF-E é o único que é específico para o recetor VEGFR-2. No genoma humano não existe o gene original que codifica VEGF-E, mas este pode estar presente em vertebrados que não sejam mamíferos. Por fim, o T. flavoviridis svVEGF encontra-se presente no veneno da cobra T. flavoviridis (habu). Esta proteína tem fraca atividade angiogénica, mas forte atividade de permeabilidade vascular, ligando-se fortemente ao recetor VEGFR-1 e fracamente ao recetor VEGFR-2.[24]

3.2. Efeito pró-angiogénico do BPC157

Estudos recentes sugerem que o BPC157 poderá contribuir para a angiogénese. Hsieh *et al* provaram a correlação entre o BPC157 e o aumento da expressão do recetor VEGFR-2, bem como da internalização do mesmo e consequentemente a promoção da angiogénese e do aumento do fluxo sanguíneo, assim como a recuperação do número de vasos sanguíneos em ratos com isquémia dos membros posteriores.[2]

De forma a compreendermos melhor o mecanismo de ação do BPC157 é necessário, antes de mais, examinar, de forma mais detalhada a cascata de processos que envolve a ativação do recetor VEGFR-2. Este recetor é aquele que tem uma ação mais direta na angiogénese, uma vez que se encontra mais expresso na superfície endotelial. Quando este recetor é ativado, pelo VEGF-A, autofosforila-se e entra no citosol, por endocitose. Esta internalização ativa a cascata da síntese de óxido nítrico endotelial e consequentemente a angiogénese. Para além desta função, o VEGFR-2 permite à célula a ativação de um loop autócrino, prevenindo assim a apoptose.[2]

Hsieh *et al* realizaram estudos para compreender melhor o mecanismo de BPC157. Para estudar o efeito angiogénico do BPC157 *in vivo* realizaram ensaios em ratos com isquémia dos membros posteriores e o ensaio CAM, que é um ensaio realizado na membrana corioalantóide do embrião da galinha. *In vitro*, o efeito angiogénico foi estudado com recurso ao ensaio de formação de tubo, usando células endoteliais cultivadas, da veia umbilical humana. Por último e a fim de estudar o efeito na expressão

e internalização de VEGFR-2, Hsieh *et al* utilizaram a análise de western blot e o método colorimétrico de imunofluorescência, respetivamente.[2]

Os resultados demonstraram que o BPC157 promoveu a angiogénese, *in vivo*, no ensaio de CAM e no ensaio de formação de tubo. No ensaio de CAM, houve aumento do número de vasos (figura 7), com a administração de 0,01µg e 0,1µg de BPC157, em relação ao controlo. Assim como, houve mais formação tubos e formação de tubos com mais qualidade (figura 8), *in vitro*, com a administração de BPC157, no ensaio de formação de tubos, do que no grupo controlo. Foi possível ainda, determinar a dose ideal de BPC157 para ambos os ensaios: 0,1µg/ovo para o ensaio de CAM e 1,0µg/mL para o ensaio de formação de tubo. Para valores acima dos representados não se obtiveram melhores resultados.[2]

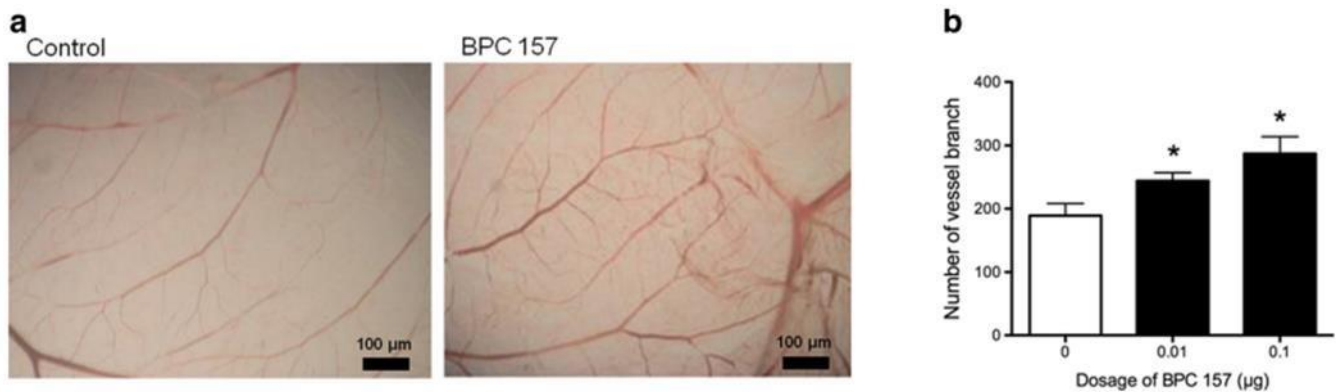


Figura 7- Efeito do BPC157 no número de vasos: a – imagem da esquerda representa o número de vasos do controlo e a imagem da direita representa o número de vasos formados com a administração de BPC157; b- representa a quantidade de novos vasos sanguíneos formados, dependente da concentração de BPC157. (Fonte: Hsieh *et al*, 2017)[2]

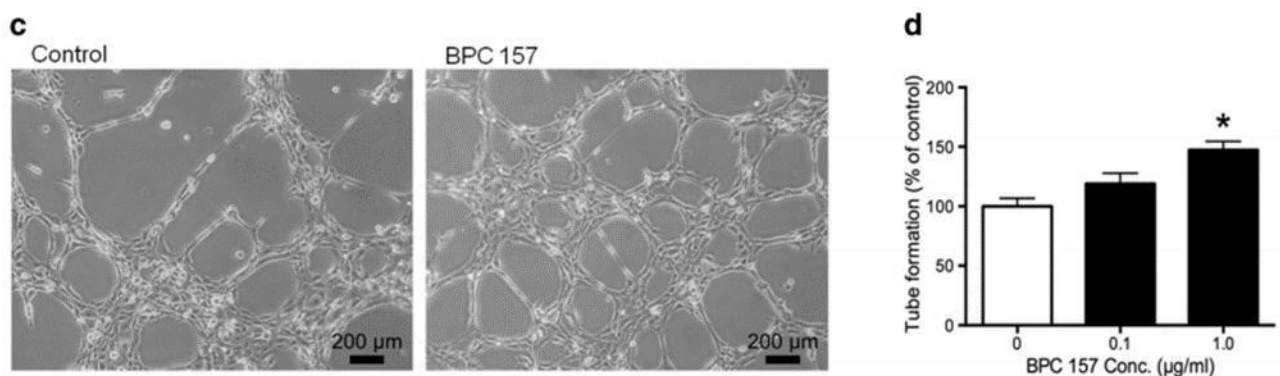


Figura 8- Efeito do BPC157 na formação de tubo: c- a imagem da esquerda representa os tubos formados após administração de solução salina, no grupo controlo e a imagem da direita representa a formação de tubos com a administração de BPC157; d – representa a quantidade de tubos formados, de acordo com a concentração de BPC157. (Fonte: Hsieh *et al*, 2017)[2]

Na experiência realizada com ratos, estes foram submetidos a anestesia com ketamina (antagonista não competitivo do receptor glutamatérgico do tipo NMDA (N-metil-D-aspartato)) e a artéria femoral foi dissecada e posteriormente excisada, sem prejuízo para as veias e nervos envolventes, resultando numa perda do aporte sanguíneo, no músculo. Após o procedimento cirúrgico, os ratos foram divididos em dois grupos, cada um com um total de 6 ratos. A um dos grupos foi-lhes administrado BPC157 (10µg/Kg) dissolvido em solução salina, através de uma injeção intraperitoneal e ao grupo controlo apenas foi administrada solução salina. As injeções foram administradas, logo após a cirurgia e uma vez por dia, durante uma semana. Os resultados demonstraram que o BPC157 acelerou a recuperação do fluxo sanguíneo (figura 9). Enquanto que, no grupo de controlo, o fluxo sanguíneo foi recuperado de forma gradual, e a taxa de perfusão aumentou de 0.4, para 0.51 ± 0.05 , ao sétimo dia. No grupo que recebeu o pentadecapéptido, a recuperação do fluxo sanguíneo foi mais rápida e a taxa de perfusão do membro aumento significativamente para 0.75 ± 0.04 , no sétimo dia. A avaliação de ambos os membros posteriores e das caudas dos animais demonstrou que não houve diferenças significativas no fluxo sanguíneo entre o grupo de controlo e o grupo que recebeu BPC157, nas caudas e nos membros posteriores que não sofreram lesão, assim como não se verificou diferença na pressão arterial das caudas de ambos os grupos. Esta análise permitiu aos investigadores descartar que a alteração da taxa de perfusão tenha como causa o efeito vasodilatador do BPC157, permitindo identificar, com clareza, o papel angiogénico do BPC57. Verificou-se também, através da análise dos resultados realizados pelo *scanning laser doppler*, um aumento do número de vasos imunocorados com CD31+ com a administração de BPC157, mais do dobro do valor (2,1) quando comparado com o grupo controlo, assim como um aumento da expressão de VEGFR-2 dentro dos respetivos vasos.[2]

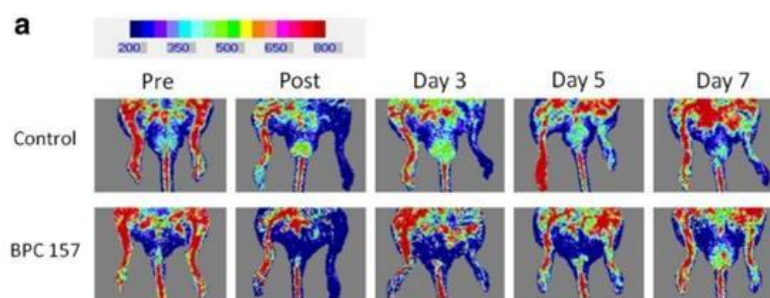


Figura 9- Efeito do BPC157 na recuperação do fluxo sanguíneo: a – representação do fluxo sanguíneo pré e pós cirurgia em ratos, no grupo controlo e no grupo em que se administra BPC157. (Fonte: Hsieh *et al*, 2017)[2]

A fim de estudar a intervenção do BPC157 na interação entre VEGF-A e VEGFR-2 realizaram-se ensaios *in vitro*, em células endoteliais cultivadas, com o intuito de

analisar a expressão tanto do fator endotelial, como do recetor. Os resultados demonstram que o péptido na concentração de 1,0µg/mL não influenciou a expressão do fator endotelial VEGF-A, mas influenciou a expressão de VEGFR-2, tal como indica na imagem (figura 10). Também se estudou a influência do pentadecapéptido na internalização do VEGFR-2, sendo possível constatar, por comparação, que o BPC157 tem um efeito muito semelhante ao fator endotelial VEGF no que toca à internalização do VEGFR-2, possibilitando a acumulação e endocitose do mesmo. Para além disto, o BPC157 também permitiu a fosforilação de VEGFR-2, dando início à cascata de fosforilações seguintes e consequente ativação dos mecanismos angiogénicos.[2]

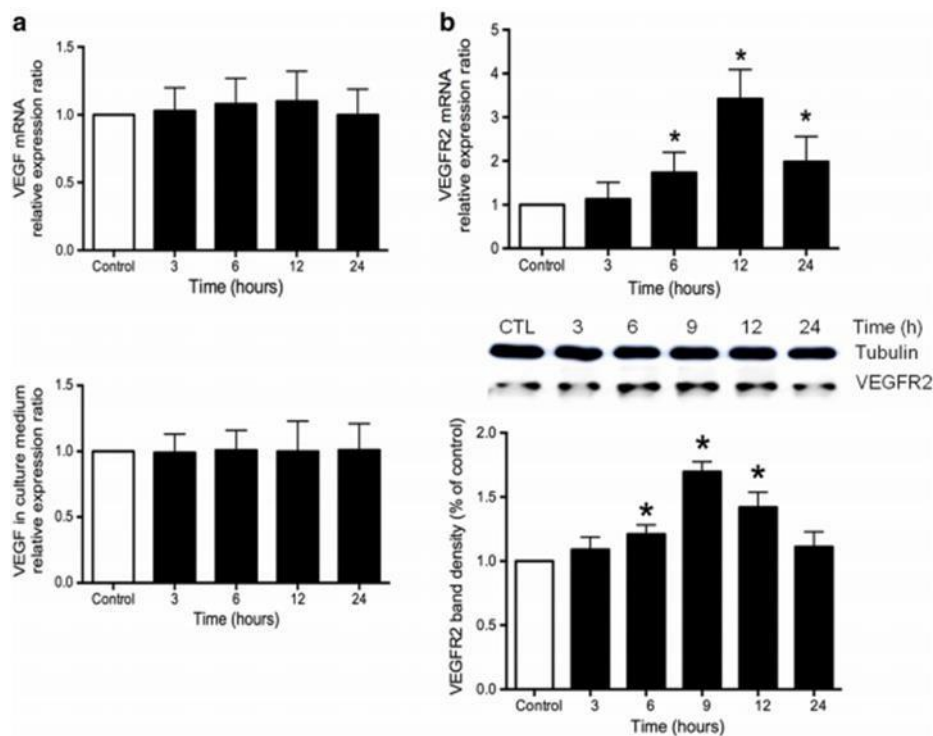


Figura 10- Efeito do BPC157 na expressão do VEGF e do VEGFR-2: a – imagem superior representa a influência do BPC157 na expressão do VEGF no mRNA, dependente do tempo e na imagem inferior está representada a influência do BPC157 na expressão do VEGF, num meio de cultura; b – representa a influência do BPC157 na expressão do VEGFR-2, no mRNA e num meio de cultura, respetivamente. (Fonte: Hsieh *et al*, 2017)[2]

3.2.1 Aplicação do efeito pró-angiogénico do BPC157 no tratamento de diversas patologias

Hsieh *et al* propuseram a utilização do pentadecapéptido para o tratamento da doença arterial periférica (DAP).[2] Esta caracteriza-se pela obstrução do lúmen arterial, não permitindo a passagem do fluxo sanguíneo, principalmente nos membros inferiores, resultando em isquémia. Dependendo do grau de obstrução, a terapêutica poderá ser mais ou menos invasiva. Num estágio inicial é muito importante a mudança do estilo de vida das pessoas e a adoção de medidas não farmacológicas, tais como o aumento da atividade física, a adoção de uma dieta equilibrada e a cessação tabágica.[25] Os tratamentos mais comuns para os casos mais graves desta patologia passam pelo recurso a técnicas cirúrgicas tais como o *bypass* ou técnicas de cateterismo. Estas podem resolver o problema de oclusão. No entanto, não resolvem outros problemas, tais como, inflamação crónica, dor, má cicatrização das feridas e infeção, em pacientes com DAP grave. Tendo em conta todas as propriedades do BPC157 e, em particular, a sua ação sobre a angiogénese, este pode constituir um candidato viável ao tratamento desta patologia.[2]

Dentro do trabalho de investigação realizado neste campo, é importante evidenciar o estudo de Tonglie *et al* [26] na investigação do potencial terapêutico do uso tópico de BPC157 no tratamento de lesões cutâneas causadas por queimaduras químicas. A cicatrização de feridas é um processo extremamente complexo do nosso corpo, envolvendo quatro etapas muito importantes. São estas: a inflamação no local de lesão, a angiogénese, a reparação do tecido conjuntivo e epitelial e, por fim, a remodelação. A seleção de um agente terapêutico, neste tipo de situações, deve ter em conta o papel do mesmo de potenciar uma destas fases, sem produzir efeitos colaterais. Em concreto, estes autores conseguiram demonstrar uma melhoria significativa nas queimaduras induzidas por álcali, em ratos tratados com BPC157. Para tal, os ratos (n=58) foram anestesiados com pentobarbital sódico (50mg/Kg), através de uma injeção intraperitoneal e o pelo dorsal foi rapado. A queimadura alcalina foi provocada por contacto de um filtro impregnado com hidróxido de sódio (2M) com a pele de cada animal durante 75s. Em seguida foi-lhes administrada uma injeção intraperitoneal de solução salina (100mL/Kg). Para confirmar os graus de queimaduras foram retiradas amostras histopatológicas de 8 ratos e os restantes foram divididos em 5 grupos (n=10), tal como consta na seguinte tabela 1:[26]

Tabela 1- Grupos usados na experiência de Tonglie et al (Adaptado: Huang *et al*, 2015)[26]

GRUPOS	ADMINISTRAÇÃO TÓPICA
Grupo I (controlo)	Hidrogel puro
Grupo II	200 ng/mL de bFGF
Grupo III	200 ng/mL BPC157
Grupo IV	400 ng/mL BPC157
Grupo V	800 ng/mL BPC-157

Todos os hidrogéis foram aplicados topicamente com um cotonete de algodão, duas vezes por dia, durante 18 dias. A condição da ferida de cada animal foi avaliada diariamente através do perímetro da mesma transferido para uma folha de acetato transparente e pesado posteriormente e traduzido em percentagem pela seguinte fórmula (Equação 1):[26]

Equação 1– Fórmula da percentagem de ferida. (Adaptado: Huang *et al*, 2015)[26]

$$\frac{100 - \textit{peso do acetato cortao}}{\textit{peso do acetato cortado inicialmente}} \times 100$$

Os FGF são fatores de crescimento de fibroblastos, envolvidos no processo de cicatrização, induzindo a proliferação de queratinócitos e fibroblastos, que levam à formação de novos vasos capilares, de forma a reconstituir a área lesada. O bFGF, em particular, tem um papel crucial no processo de cicatrização, uma vez que induz a neovascularização, promove a síntese de colagenase e a proliferação de fibroblastos e foi por isso utilizado como reagente positivo no estudo.[26]

Tonglie *et al*[26] observaram que o fecho das feridas foi favorecido pela a utilização de BPC157 e de bFGF. Não só a percentagem de cicatrização (figura 11) foi superior para estes dois grupos, com taxa de recuperação de 80% no 18º dia, para o grupo tratado com BPC157, como também foi possível perceber que o processo se deu de forma mais célere. Estes resultados foram apoiados pelos resultados observados nos exames histológicos da

pele. Nos ratos do grupo controle o tecido de formação era hipocelular e coberto por um fino epitélio, enquanto que nos grupos tratados com BPC157 e bFGF as camadas mostraram melhor formação de tecido, reepitelização, remodelação dérmica, bem como, maior extensão da deposição de colagénio e mais expressão de VEGF.[26]

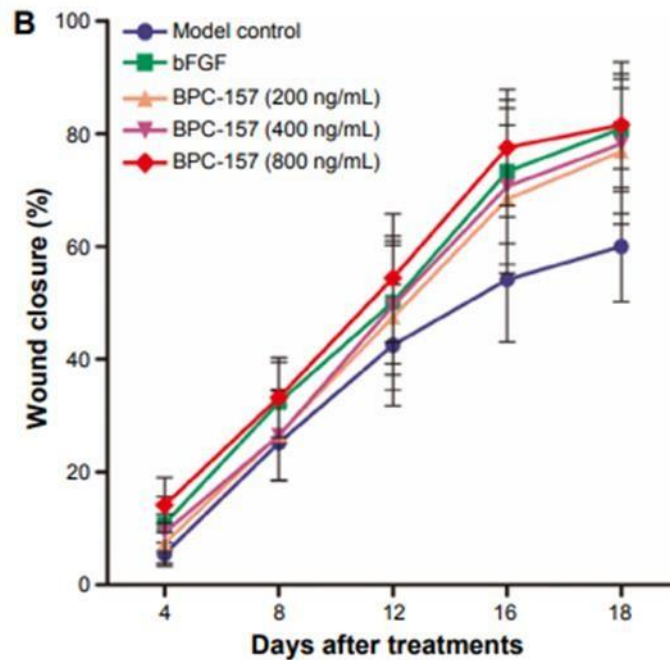


Figura 11- Efeito do BPC157 na cicatrização de lesões causadas por queimaduras químicas: B – representa a porcentagem de ferida que cicatrizou, ao longo do tempo de tratamento, para cada grupo de ratos. (Fonte: Huang *et al*, 2015)[26]

Os estudos formulados por Tonglie *et al* também permitiram chegar a conclusões relativas à interferência do BPC157 na proliferação celular, migração celular e formação de tubo em células endoteliais (figura 12). O produto desses estudos, em células endoteliais retiradas da veia umbilical humana (HUVEC), revelaram que o BPC157 aumentou significativamente a proliferação de células HUVECs e reduziu o número de células em fase G₀/G₁, em comparação com o grupo controle. Estas descobertas implicam uma possível implicação do péptido na viabilidade celular e no ciclo da célula. Também a migração e a motilidade celular estão aumentadas na presença do pentadecapéptido.[26]

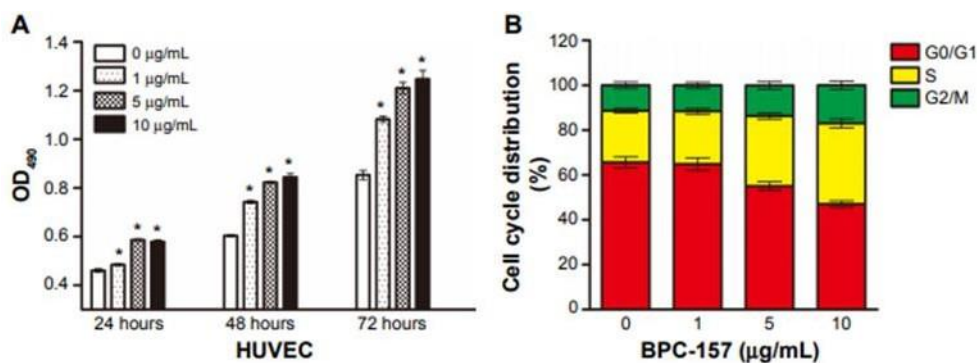


Figura 12- Efeito do BPC157 na proliferação celular: A – representa a concentração de células HUVECs, dependentes do tempo e da concentração de BPC157 utilizada; B- representa a percentagem de células em fase Go/G1, S e G2/M, de acordo com a concentração de BPC157. (Fonte: Huang *et al*, 2015)[26]

3.3. Vantagens do BPC157 em relação aos fatores de crescimento

Como revisto até agora, a angiogênese é um processo que está envolvido no processo de cura de mais do que uma patologia. Sendo que esta é mediada por fatores de crescimento, muitos autores confrontaram os seus efeitos aos produzidos por BPC157. Essas comparações forneceram evidências concludentes a favor do péptido. Este é mais facilmente sintetizado e purificado, relativamente estável e eficaz numa dose pequena (ng-µg/mL), com um efeito prolongado já reportado.[2] Para a mesma faixa de dosagem, este, potencia os mais variados efeitos, em diferentes tecidos e órgãos. Pelo contrário, os fatores de crescimento têm um efeito limitado no trato gastrointestinal e este difere, dependendo do local em que atuam. No caso das lesões cutâneas, musculares, nos tendões e ligamentos, bem como na cicatrização óssea, estas moléculas necessitam transportadores (dispensáveis no caso do BPC157) e como consequência apenas conseguem exercer um efeito local. A adição de um ou mais transportadores pode-se refletir na atividade dos VEGFs, uma vez que estes formam um complexo. Contrariamente, o pentadecapéptido atua sozinho, sendo possível descrever claramente todos os seus efeitos, como sendo parte da sua atividade individual.[5] Para além disso, o BPC157 apresenta uma atividade parcialmente semelhante aos VEGFs, sem causar os efeitos colaterais dos mesmos, como por exemplo, o aumento significativo da pressão arterial.[2]

O controlo da angiogênese é importante, não só, para as situações em que este mecanismo faz parte integrante do processo de cura como, também, nas situações em que este poderá vir a promover o crescimento de tumores. Kang *et al*[27] estudaram a

atividade desempenhada pelo BPC157, em murganhos, como agente fundamental na sinalização implicada na caquexia associada ao cancro. Este foi induzido pela administração de células de adenocarcinoma C26.[27]

A caquexia é uma condição clínica, que se manifesta através da perda de peso corporal, de músculo esquelético e de tecido adiposo, impulsionada pelo gasto excessivo de energia, aumento descontrolado da atividade catabólica, acompanhada de um aumento das citocinas pró-inflamatórias, da degradação das proteínas do músculo e aumento da lipólise. A caquexia pode estar associada ao cancro, uma vez que a anorexia é coincidente com o desenvolvimento da doença. A inflamação crónica e a sinalização, induzidas pelo microambiente tumoral, são marcas de referência da caquexia. Em particular, as citocinas pró-inflamatórias, tais como, a interleucina-6 (IL-6), os fatores de necrose tumoral alfa (TNF- α) e os fatores de necrose tumoral beta (TNF- β) foram estudados pela sua implicação na regulação desta patologia.[27]

Kang *et al* consideraram a utilização de BPC157, uma vez que este poderia estar envolvido na inibição de TNF- α , IL-6 e do sistema ubiquitina-proteassoma. A ubiquitina é uma proteína sinalizadora, que marca as proteínas para serem degradadas por um complexo multiproteico, denominado proteassoma. Estudos revelam que, em músculos atrofiados, a ubiquitina alcança níveis significativamente elevados.[27]

Os resultados desta investigação revelaram que o BPC157 permitiu um aumento do peso, retardou significativamente a atrofia muscular, aumentando a regeneração do músculo e manteve os níveis normais das citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-6), em relação ao grupo controlo. Ambos os grupos (o de controlo e o que recebeu o péptido), tiveram regimes alimentares iguais. Seria expetável que graças ao seu poder angiogénico, o pentadecapéptido aumentasse o volume do tumor. No entanto, tal não se verificou, como é possível observar na figura 13.[27]

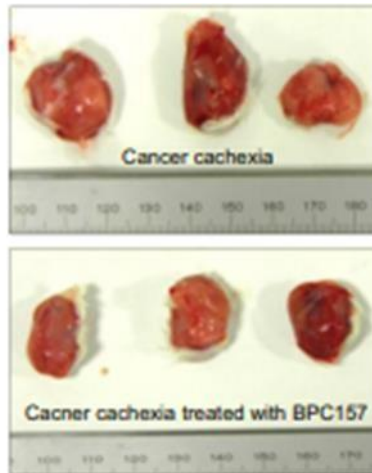


Figura 13- Volume do tumor no grupo de controlo e no grupo administrado com BPC157.
(Fonte: Kang *et al*, 2018)[27]

Este resultado pode ser explicado e corroborado pelo trabalho de Radeljak, Seiwert e Sikiric,[27] que verificaram que o péptido diminuiu a proliferação de células de melanoma humano, através de uma redução de 55% das células que entram na fase S, e antagonizou os efeitos desencadeados por VEGFs.[28]

4.O efeito do BPC157 no trato gastrointestinal

4.1. Integridade da mucosa e a dopamina

A integridade da mucosa do trato gastrointestinal (TGI), ou a falta dela, está amplamente implicada na disfunção de todo o TGI. Esta pode ser afetada por uma anomalia no sistema dopaminérgico. A dopamina é um neurotransmissor que pertence à família das catecolaminas e atua nos neurónios dopaminérgicos e adrenérgicos. As suas vastas funções incluem uma interação no eixo cérebro-intestino. A fim de provar a sua influência, neste eixo e consequentemente na integridade da mucosa, Sikiric *et al*[29] decidiram administrar um antagonista do recetor da dopamina (haloperidol a 5mg/Kg) e um inibidor da captação de dopamina, através da depleção das vesículas de armazenamento (reserpina 5mg/Kg), em ratos saudáveis e avaliar o efeito destes na mucosa gástrica. Como esperado, estes provocaram lesões quando administrados em separado e lesões, ainda mais graves, quando administrados em conjunto. No mesmo estudo, a administração de agentes que mimetizam a dopamina (bromocriptina, apomorfina e anfetamina) demonstrou eficácia na inibição das lesões provocadas por haloperidol e reserpina, em separado. No entanto, quando estes foram administrados em conjunto, os efeitos benéficos dos dopaminomiméticos estavam ausentes. Em contrapartida, a aplicação de BPC157 (10µg e 10ng) obteve resultados igualmente bons na inibição de lesões provocadas pelos antagonistas dopaminérgicos, em separado ou administrados em conjunto.[29]

Este estudo permitiu concluir que a manutenção da integridade da mucosa depende da interação dopaminérgica ao nível pré e pós-sináptico. E, por conseguinte, a utilização de fármacos que mimetizem a dopamina não chega para resolver este problema, uma vez que estes só atuam no terminal pós-sináptico. O facto do pentadecapéptido ter um efeito benéfico na inibição destas lesões, implica que este tenha um efeito, ainda não caracterizado, no sistema dopaminérgico.[29]

4.2. Efeito do BPC157 na motilidade intestinal

Os movimentos coordenados do estômago e do intestino são necessários e fundamentais para digerir e impulsionar o conteúdo intestinal ao longo do trato digestivo, através de padrões complexos de contração e relaxamento.[30] Daí a importância da motilidade

intestinal para manter a saúde de todo o sistema, uma vez que um funcionamento anormal desta atividade poderá desencadear distúrbios causados por espasmos ou paralisia intestinal, que afeta tanto o trato gastrointestinal superior como o inferior. Ao nível do trato gastrointestinal superior segue-se os distúrbios mais comuns:

- Acalasia – ausência do peristaltismo esofágico, o esfíncter esofágico inferior não relaxa;
- Doença do refluxo gastroesofágico (DRGE) – refluxo do conteúdo gástrico do estômago para o esôfago, podendo resultar em lesão da mucosa;
- Gastroparesia – atraso no esvaziamento gástrico sem evidência de obstrução mecânica, resultando em sintomas tais como náuseas, vômitos, saciedade precoce e dor abdominal;
- Discinesia biliar – distúrbio de motilidade que afeta a vesícula biliar que resulta em dor abdominal ou microlitíase.[30]

No que toca ao trato inferior, os distúrbios são os que se descrevem:

- Síndrome do intestino irritável - dor abdominal crônica, obstipação e/ou diarreia, de acordo com os hábitos nutricionais de cada pessoa e sem causa orgânica;
- Inércia do cólon - passagem retardada das fezes pelo cólon sem anormalidades no processo de defecação, o que resulta em obstipação;
- Síndrome de Ogilvie (Pseudo-obstrução intestinal aguda) - dilatação acentuada do cólon;
- Dissinergia do assoalho pélvico - uma obstrução funcional decorrente do relaxamento do músculo puborretal, do esfíncter anal externo ou de ambos, resultando numa dificuldade na evacuação das fezes;
- Doença de Hirschsprung - a seção distal do cólon não relaxa, causando uma obstrução funcional;
- Incontinência fecal - evacuação involuntária de fezes.[30]

A patogénese dos distúrbios da motilidade intestinal primária provavelmente é multifatorial, mas não foram demonstradas nem anormalidade bioquímica, nem anormalidade estrutural. Existem, no entanto, evidências de que a inflamação da

mucosa, bem como a ativação imunológica, associadas a uma deficiência na função de barreira epitelial, desempenham um papel de relevância nos distúrbios do TGI.[30]

Sabe-se também que, o intestino produz 95% da 5-hidroxitriptamina (5-HT), também conhecida como serotonina. Ao nível intestinal. Esta molécula tem um efeito pró-inflamatório e pode, por isso, ter um papel de extrema importância na motilidade intestinal e na doença inflamatória intestinal.[31]

Segundo a bibliografia, o BPC157 tem implicações na modulação da síntese de 5HT, no cérebro do rato. Para comprovar isso, Wang et al,[30] conceberam um estudo para perceber qual o mecanismo de ação do BPC157, no trato gastrointestinal e qual a correlação deste com o 5HT. Os resultados observados permitiram-lhes concluir que este suprime a síntese e libertação de 5HT entérico e gastrointestinal e atenua a motilidade GI em amostras entéricas de ratos e humanos. Assim como atenuou a contração fásica e tónica em tiras do íleo e do cólon, tanto de humanos, como de ratos. No entanto, não foram observados efeitos antagonistas do péptido, na ação estimulante do 5HT exógeno, nem na ação inibitória da norepinefrina na motilidade intestinal.[31]

Estes dados sugerem que o BPC157 não está diretamente envolvido na ativação dos recetores musculares e neuronais que influenciam a motilidade intestinal, mas sim que o mecanismo do BPC157 passa por uma redução da concentração entérica de 5HT e que, por sua vez, esta ação tem influência na motilidade intestinal, atenuando-a. Também o seu efeito na proliferação de neurónios entéricos e nas células gliais entéricas foi estudado, Wang *et al*[31] (figura 14). O produto desse estudo revela que o BPC157 aumenta a taxa de sobrevivência destas culturas, que sugere que este poderá ser um poderoso agente na cura de lesões nas estruturas entéricas, tanto nervosas, como das mucosas.[31]

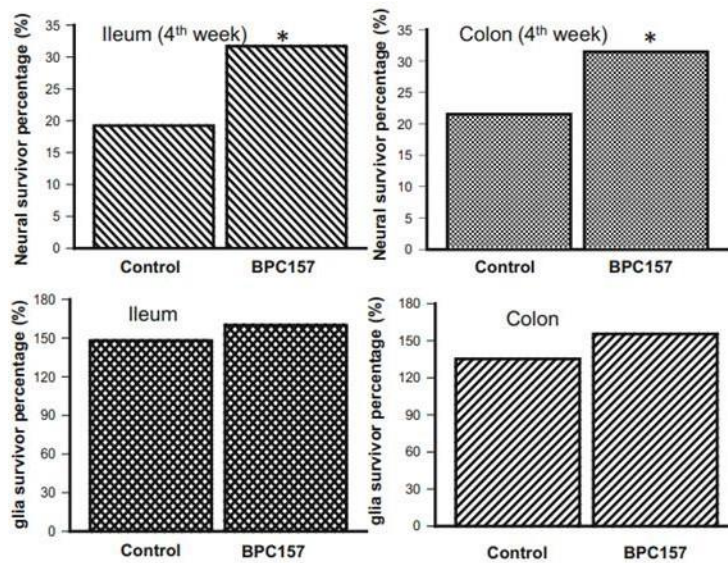


Figura 14- Taxa de sobrevivências das células glias entéricas: As barras representam a percentagem de células contadas na quarta semana. (Fonte: Wang *et al*, 2019)[31]

4.3. Efeito do BPC157 nas patologias do trato gastrointestinal

4.3.1. Periodontite

A periodontite é uma doença inflamatória crónica dos tecidos de suporte dos dentes, que são tecidos especializados, ligamentos e ossos, conhecidos coletivamente como o periodonto. Esta patologia é provocada por infeção bacteriana e pode levar à perda permanente do dente. O tratamento sistémico com BPC157, no contexto da periodontite, diminui o extravasamento de plasma e a reabsorção óssea, sem alterar a circulação sanguínea saudável. A utilização deste péptido revelou ser importante, como anti-inflamatório nos tecidos periodontais, segundo a investigação de Keremi *et al*. [1]

4.3.2. Fístulas enterocutâneas

As fístulas enterocutâneas são aberturas que conectam a pele e a mucosa do TGI. Uma fístula gastrocutânea, como o próprio indica, é uma comunicação anormal entre a pele e o estômago, geralmente associadas a complicações pós-operatórias, mas também podem ser provocadas por carcinoma, doença inflamatória crónica e radioterapia. Dada a

variedade das causas, a etiologia não está bem definida. Podem envolver a necrose vascular, erosão inflamatória da parede gástrica e falta de aporte sanguíneo.[32]

Skorjanec *et al*,[32] estudaram a possibilidade de alguns fármacos utilizados no tratamento de úlceras gástricas exercerem um efeito benéfico no tratamento de fístulas gastrocutâneas e compararam esses efeitos aos proporcionados por BPC157. Dado que, neste tipo de lesão, existe uma relação entre os dois sistemas (pele e TGI), esta poderá ser uma abordagem promissora.[32]

Estes estudos permitiram concluir que existe benefício na utilização de fármacos antiulcerosos, sendo que a ordem do mais eficaz para o menos eficaz é a seguinte: BPC 157 > atropina > omeprazole > ranitidina. Para além desta ilação, foi possível ainda concluir que o BPC157 foi a única substância testada que melhorou simultaneamente as lesões na pele e na mucosa do estômago e que promoveu a cicatrização da ferida macroscopicamente, microscopicamente e funcionalmente, uma vez que não se verificou vazamento, mesmo após a administração intragástrica de água (20mL). Estes dados implicam o envolvimento do péptido na organização do colagénio, tendo sido observada uma substituição do colagénio III por fibras de colagénio I. O que também apoia esta suposição é o facto de este ser o único capaz de reverter o efeito da administração de corticosteroides no agravamento da fístula. Isto pode ser explicado pela ação que os corticosteroides têm na interrupção da fibrogénese e da fibroplasia, que consequentemente retarda a cicatrização da ferida.[32]

As fístulas esofagocutâneas, localizadas na zona do esófago também requerem a atenção da comunidade científica, uma vez que estas são, normalmente, letais em ratos. Posto isto, a associação entre este tipo de fístulas e o sistema do óxido nítrico foi investigada por Cesarec *et al*,[33] assim como a relação destas com a esofagite e a pressão insuficiente do esfíncter esofágico inferior e o esfíncter pilórico.[33]

Ratos saudáveis foram submetidos a cirurgia, a fim de criarem fístulas esofagocutâneas. No quarto dia, a taxa de mortalidade do grupo controlo foi de 70% e a extração de RNA deste mostrou que havia expressão de enzimas que catalisam a produção de óxido nítrico a partir da L-arginina, em particular nas isoformas I (eNOS) e II (iNOS) e presença de COX2 na fístula. No grupo em que se administrou BPC157, não se verificou mortalidade no quarto dia, os defeitos provocados pela cirurgia foram rapidamente cicatrizados e houve redução do vazamento. O péptido diminuiu a expressão das enzimas (eNOS). Nos grupos em que se administrou um bloqueador do sistema do óxido nítrico (L-NAME) e L-arginina verificou-se um agravamento das lesões (mortalidade de 70%) e uma

atenuação das lesões (não houve mortalidade), mais lenta do que quando administrado BPC157, respetivamente.[33]

Segundo os resultados obtidos por Cesarec *et al.*,[33] estes autores puderam concluir que existem três consequências relacionadas com o sistema do óxido nítrico. São elas: a cicatrização de fístulas (defeitos cutâneos/defeitos esofágicos), pressão dos esfíncteres e progressão da esofagite. Os problemas causados nos esfíncteres e a esofagite podem ser consequências de como a lesão local afeta sistemicamente. O péptido demonstrou ser mais rápido na cicatrização da lesão local, o que consequentemente se refletiu no curso da esofagite e na recuperação da pressão do esfíncter. Por outro lado, a L-arginina atuou mais lentamente na lesão local, não tendo implicações positivas no curso da esofagite. Para além deste facto, foi possível observar as diferenças na coadministração de L-NAME e L-arginina/ L-NAME e BPC157. Nos ratos em que se coadministraram L-NAME com BPC157 os resultados foram mais proeminentes e a cicatrização começou mais rapidamente, o que pressupõe que o mecanismo de contração de BPC157 em relação à L-arginina é mais potente. Em conclusão, o BPC157, não só, demonstrou ter bons resultados na cicatrização da fístula esofagocutânea, como também, parece ter efeitos promissores na esofagite.[33] Esta conclusão é apoiada por outros estudos realizados em ratos com esofagite, provocada por anastomose gastrojejunal.[34]

4.3.3. Úlceras pépticas

Há vários tipos de úlceras, que podem ser divididas em 3 tipos: úlcera péptica, úlcera de decúbito ou de pressão e úlcera das pernas[35] Focando na úlcera péptica, por questões de relevância para esta monografia, é conveniente estudar os mecanismos que estão por trás da patogénese desta doença.

As células epiteliais do estômago e do duodeno secretam muco, em resposta às irritações e à estimulação colinérgica. A camada mais superficial, das superfícies destes órgãos, é impermeável ao ácido e à pepsina. Para além dessa função estrutural, também é constituída por células que secretam bicarbonato, de modo a tamponar o conteúdo ácido que possa existir nestes órgãos. Caso este mecanismo falhe, e se verifique uma entrada do ácido nas células epiteliais, são ativados mecanismos adicionais disponíveis para reduzir as possíveis lesões. Tal acontece com recurso às bombas de iões, presentes nas membranas celulares, que ajudam a regular o pH intracelular. Quando ocorre um defeito na mucosa gástrica ou duodenal, estes mecanismos ficam comprometidos, podendo levar à extensão para as camadas musculares e à formação de uma úlcera.[36]

As causas por trás destes defeitos estruturais e bioquímicos são diversas:

- Infeção por *Helicobacter pylori* – bactéria gram negativa que produz urease, permitindo-lhe assim alcalinizar o seu microambiente e sobreviver em meio ácido. Promove a inflamação das mucosas e, portanto, uma exposição aumentada ao meio ácido;
- Fármacos – o uso de anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) desgasta a barreira protetora das mucosas, permitindo que esta se torne permeável ao ácido. O uso isolado de corticosteroides não está associado à formação de úlceras, no entanto a sua utilização em concomitância com AINEs poderá potencializar o aparecimento de uma úlcera;
- Fatores do estilo de vida – o tabagismo, no contexto de uma infeção por H pylori, aumenta o risco de reincidência da úlcera. Contrariamente ao que é dito comumente, existem poucas evidências de que a cafeína esteja associada a um risco aumentado de úlceras duodenais;
- Stress fisiológico – queimaduras, trauma do Sistema Nervoso Central (SNC), cirurgia, doenças sistémicas graves, sepse, insuficiências respiratórias e lesões traumáticas múltiplas aumentam o risco de ulceração;
- Estado hipersecretório (pouco comum) – situações raras que podem causar uma úlcera péptica, tais como, leucemias basófilas, mastocitose sistémica, fibrose cística, síndrome do intestino curto e hiperparatireoidismo;
- Fatores genéticos - Mais de 20% dos pacientes têm história familiar de úlceras duodenais.[36]

As úlceras provocadas por *stress* são erosões hemorrágicas superficiais, que envolvem necrose da mucosa e do tecido conjuntivo. Dada esta superficialidade, este tipo específico de úlcera consegue cicatrizar de forma rápida, comparativamente com as úlceras que atingem os tecidos musculares, cuja cicatrização depende da angiogénese e da restituição epitelial. A principal causa das úlceras provocadas pelo *stress* fisiológico é a libertação excessiva de glicocorticóides e catecolaminas. Estas por sua vez, causam vasoconstrição, originando uma situação de isquémia, resultando no dano da mucosa gastroduodenal, por exposição desta ao ácido do estômago. Em termos terapêuticos, estas úlceras podem ser tratadas com antiácidos, antagonistas dos recetores de H₂ e inibidores das bombas de prótons. Há, no entanto, um crescente interesse noutra tipo de moléculas, são estas

os fatores de crescimento angiogénicos, o sucralfato e o BPC157. Este último, quando administrado em pré-tratamento, previne as erosões hemorrágicas gástricas induzidas pelo etanol (agente que provoca *stress*) e as úlceras duodenais agudas induzidas por cisteamina. Também acelera a recuperação das úlceras gástricas e duodenais, quando administrado após a indução das mesmas.[37]

Para além desta descoberta, também se estudou a possibilidade de se utilizar o péptido como opção terapêutica para úlceras de carácter agudo e crónico, através de diferentes doses e vias de administração. Graças à contribuição de Xue *et al*, [38] que desenharam três modelos de estudo aplicados em ratos, foi possível aferir as potencialidades do BPC157, nas diferentes úlceras. Estes modelos podem ser mais facilmente entendidos pelo esquema (figura 15). Em todos os modelos, o pentadecapéptido foi administrado via intramuscular (i.m.) e via intragástrica e foram utilizados 3 controlos: com administração de solução salina, administração de famotidina (40µg/Kg) e apenas excipiente (manitol). A avaliação da performance das diferentes substâncias utilizadas teve como base a área de úlcera formada no estômago, convertida posteriormente em taxas de inibição da úlcera, para todos os modelos. Adicionalmente, no modelo III (indução pela administração de acetato), criado para recriar as condições de uma úlcera crónica, também se avaliou o estado de reconstrução e de granulação do epitélio glandular e a espessura do tecido do órgão.[38]

A famotidina é anti-histamínico H₂ utilizado no tratamento da úlcera duodenal, úlcera gástrica benigna, síndrome de Zollinger-Ellison e prevenção da recorrência de úlcera duodenal. Neste estudo foi usada como controlo positivo.[38]

No modelo de úlcera induzida pela indometacina (AINE) os resultados apresentados demonstraram que a maior percentagem de úlcera inibida foi consequência da administração de BPC157, nas dosagens de 400 e 800 ng/Kg, via i.m. (sem diferença na percentagem, entre as duas dosagens). A área de úlcera, em relação aos controlos (solução salina e excipiente), estava significativamente diminuída. Quanto à administração feita por via intragástrica, observaram-se melhores resultados para a famotidina, no entanto, a administração do péptido também demonstrou ser benéfica, com especial destaque para as dosagens mais altas. O mesmo foi verificado nos restantes dois modelos. O melhor resultado obtido com a administração de BPC157 (65,6% de inibição da úlcera) foi observado em animais, cuja úlcera foi induzida pelo modelo II, por via i.m. Em relação à avaliação da reconstrução e da granulação do epitélio e da espessura do tecido foi possível concluir que o BPC157 teve efeitos protetores significativos, em relação aos controlos e o espessamento do tecido de granulação foi superior, em

comparação com o grupo que recebeu famotidina, o que implica uma diferença no modo de atuação entre as duas substâncias.[38]

Destes resultados, foi possível retirar ilações sobre a dosagem mais eficaz de BPC157 que, neste caso, corresponde às dosagens mais altas (400 e 800 ng/Kg) e que a dosagem efetiva, de famotidina utilizada, foi 50 vezes superior à usada no regime mais alto do péptido, para efeitos idênticos.[38]

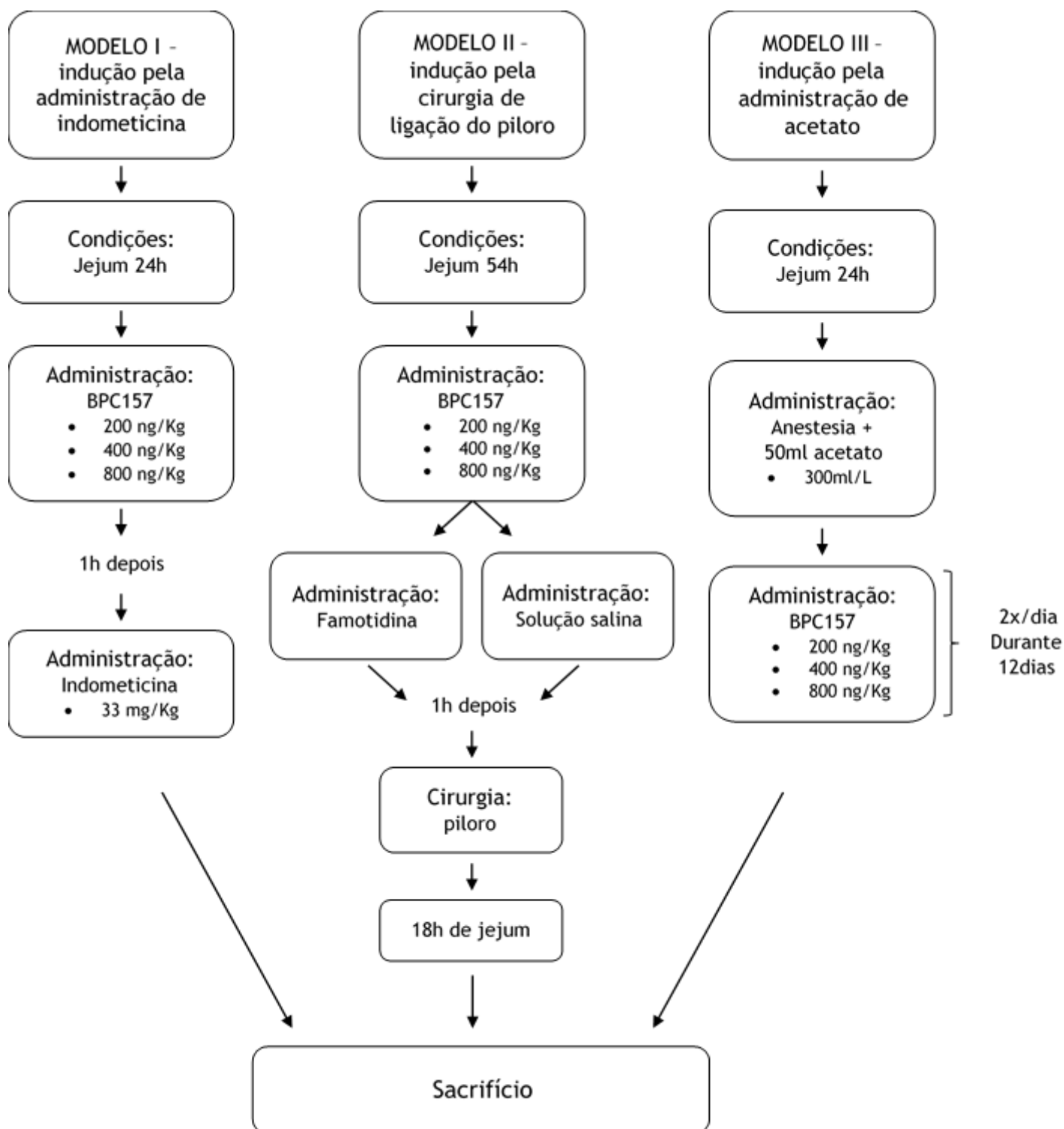


Figura 15- Modelos utilizados por Xue et al para simular as condições de uma úlcera péptica. (Adaptado: Xue et al, 2004)[38]

4.3.4. Síndrome do intestino curto

A síndrome do intestino curto (SIC) é um distúrbio do trato gastrointestinal provocado pela má absorção. É definida como a incapacidade de manter a homeostase nutricional, de fluídos e/ou eletrólitos, com o consumo de uma dieta normal e saudável. Muitos pacientes dependem de nutrição parental para sobreviverem. No entanto, esta dependência poderá trazer complicações e prejuízo na qualidade de vida, bem como um alto custo associado a isso.[39]

As manifestações clínicas, prognósticos e tratamento da SIC variam dependendo da anatomia intestinal remanescente e da sua função residual. Doentes com jejunostomia, é a condição mais difícil de gerir, são os mais propensos a precisar de suporte parental permanente. Alcançar a independência da alimentação parental pode passar pela alteração da dieta e incorporação de líquidos com vista a estimular a adaptação intestinal e/ou o uso de fármacos para controlo dos sintomas.[39]

O efeito do BPC157 nesta patologia foi estudado por Sever *et al*,[40] uma vez que a sua capacidade promissora de adaptação e citoproteção poderia influenciar o rumo terapêutico da SIC. O estudo consistiu na remoção do intestino delgado de ratos previamente sedados, induzindo um estado de anastomose. Após a cirurgia um grupo recebeu BPC157 e outro grupo recebeu solução salina (grupo controlo), intraperitonealmente, uma vez por dia desde a cirurgia até às 24h anteriores ao sacrifício dos ratos, ou alternadamente com solução salina, via oral. A avaliação foi feita de forma cega, por um observador independente.[40]

Após a cirurgia foi observado o estado nutricional dos ratos, com base na medição do peso corporal, imediatamente após a cirurgia e nos dias 1-10,12,14,18,21 e 28. Os ratos do grupo controlo sofreram uma perda de peso significativa, agravada ao longo do período experimental. Esta diminuição abrupta foi neutralizada pela administração do péptido, que promoveu o aumento de peso consistente, característico de ratos saudáveis, desde o dia 1 até ao final da experiência. No dia 28, os ratos do grupo controlo perderam, em média, $33,1 \pm 7,4$ g, enquanto que o grupo que recebeu BPC157 via parentérica ($10 \mu\text{g}/\text{Kg}$) e via oral ($10 \mu\text{g}/\text{Kg}$) ganharam, respetivamente, $70,4 \pm 13,6$ g e $68,7 \pm 11,4$ g. Para além da diferença entre os regimes de BPC157 não ser muito significativa, também a comparação deste aumento de peso, com a diferença de peso de animais saudáveis (não operados), não foi significativa, uma vez que estes no final da experiência apresentaram um aumento de $73,2 \pm 13,7$ g.[40]

A nível macroscópico foi possível observar a razão entre o diâmetro do jejuno e do íleo. Em ratos do grupo controlo, observou-se um aumento do diâmetro do jejuno em relação ao íleo. Essa condição não se verificou em ratos administrados com BPC157, que demonstraram uma razão jejuno/íleo constante, ao longo da experiência.[40]

Microscopicamente, foi consistente o aumento da altura das vilosidades, a profundidade das criptas e espessura da camada muscular interna (circular), tanto em amostras de jejuno como nas amostras de íleo, em ratos tratados com BPC157. Ou seja, não se deu um declínio da espessura muscular interna, tal como observado nos grupos controlo e as camadas exteriores (longitudinais) não foram afetadas. Isto resulta ser uma excelente demonstração da capacidade adaptativa do péptido, que se traduz numa melhoria do estado nutricional dos ratos. Esta correlação entre diferença de peso, a altura das vilosidades, a profundidade das criptas e o estado da camada muscular interna está na base do tratamento da SIC e, conseqüentemente o BPC157 poderá exercer um papel promissor nesta patologia.[40]

4.3.5. Doença inflamatória intestinal

A doença inflamatória intestinal (DII) é uma doença idiopática, causada por uma resposta imune desregulada direcionada para a microflora intestinal do hospedeiro. Esta divide-se em dois grupos: a colite ulcerativa (CU) e a doença de Crohn (DC). A principal diferença entre estes dois subtipos reside no local anatómico afetado. A CU afeta a mucosa do cólon e a DC pode afetar qualquer segmento do TGI, desde a boca até ao ânus, podendo envolver mais do que uma área, de forma descontínua, e afetar mais do que uma camada, sendo considerada uma doença transmural. A inflamação provocada por este tipo de doença causa ulceração, edema, sangramento e perda de eletrólitos. Muitos estudos apontam para uma possível influência dos fatores genéticos na DII, através da rutura da integridade da barreira epitelial, défice na autofagia, deficiências em recetores de reconhecimento padrão inato e problemas associados à diferenciação de linfócitos. Foram identificados mediadores inflamatórios na DII, e evidências consideráveis sugerem que esses mediadores desempenham um papel importante na fisiopatologia da doença. As citocinas, que são liberadas pelos macrófagos em resposta a vários estímulos antigénicos, ligam-se a diferentes recetores e produzem efeitos autócrinos, parácrinos e endócrinos. As citocinas diferenciam os linfócitos em diferentes tipos de células T. As células T auxiliares, tipo 1 (Th-1), estão associadas principalmente à DC, enquanto as células Th-2 estão associadas principalmente à CU.[41]

Um estudo, realizado por Veljaca *et al*,[42] investigou a implicação de BPC157 em mediadores inflamatórios, através da administração de ácido trinitrobenzenossulfónico (TNBS), dissolvido em etanol, diretamente no cólon de ratos saudáveis. O TNBS induz danos severos, caracterizados por necrose e inflamação aguda, graças à atividade da mieloperoxidase (MPO).[43] A MPO é uma enzima, presente nos grânulos dos neutrófilos e, em menor grau, nos lipossomas dos monócitos. Na presença de peróxido de hidrogénio, esta enzima catalisa a formação de espécies intermédias de oxigénio, que provocam danos nos tecidos dos órgãos.[42] O *outcome* desta experiência revelou que o BPC157 induziu uma redução da extensão dos danos provocados por TNBS, associada a uma redução significativa, dose dependente, da atividade da MPO no tecido do cólon.[43]

Por outro lado, a cisteamina também pode estar envolvida na indução da colite ulcerativa, graças à sua atividade citotóxica. A aplicação de BPC157 em lesões provocadas por cisteamina demonstrou ser eficaz, revertendo os efeitos tóxicos, da mesma, em lesões agudas e em reincidências.[44]

5. Eixo Intestino-Cérebro

O eixo Intestino-Cérebro consiste na comunicação bidirecional entre o Sistema Nervoso Central (SNC) e o entérico, estabelecendo uma interação entre os centros cognitivos no cérebro e as funções intestinais periféricas.[45]

O conceito de citoproteção encaixa nas funções periféricas do eixo Intestino-Cérebro. Daí a extrapolação de que, os efeitos benéficos de BPC157 pudessem também ser benéficos no tratamento de patologias que afetem o SNC. Foi observada uma influência central benéfica, no que respeita ao sistema da serotonina.[5]

5.1. Serotonina

Apesar de não haver clareza no que concerne à fisiopatologia subjacente ao transtorno depressivo, ensaios clínicos e pré-clínicos sugerem que a depressão está intimamente relacionada com distúrbios na atividade da serotonina.[46] Assim, tal como, na depressão, os antidepressivos são eficazes no alívio de lesões gastrointestinais (experimentalmente e clinicamente), também surgiu a hipótese de que os agentes antiulcerosos pudessem desempenhar um papel importante em distúrbios do SNC, tal como a depressão.[47]

Sikiric *et al*[47] avaliaram os efeitos de BPC157 em ratos submetidos ao teste de Porsolt (teste de natação forçada num cilindro de vidro vertical, durante 15 minutos) e ao ensaio de *stress* crónico (submetidos à imersão durante 90 minutos, 5 dias consecutivos), através da determinação do tempo de imobilidade (flutuação passiva) e do teste de imobilidade de campo aberto (contabilização de número de quadrados atravessados pelos ratos), respetivamente.[47]

Os resultados do teste de Porsolt relatam períodos de imobilidade significativos, em grupos controlo (administrados apenas com solução salina). Como agentes de referência, foram administradas a imipramina (antidepressivo tricíclico) e a nialamida (inibidor da Monoamino Oxidase - MAO), que reduziram consistentemente o tempo de imobilidade. Um efeito semelhante foi observado em ratos administrados com BPC157, tendo este reduzido, ainda mais, o tempo de flutuação passiva. Em comparação com o teste de Porsolt, o ensaio de *stress* crónico mostrou-se mais resistente à medicação e os resultados benéficos da imipramina só foram denotados ao sexto

dia do estudo. No entanto, a aplicação de BPC157, não só, produziu melhores resultados, como também foi mais rápido a antagonizar os efeitos produzidos neste ensaio.[47]

Estes resultados implicam que o efeito de BPC157 está associado a uma atividade no SNC e sugerem um envolvimento do sistema serotoninérgico.[47]

A influência do pentadecapéptido sobre o sistema serotonina também foi investigada por Blagaic et al,[47] num estudo realizado em ratos com Síndrome da serotonina, combinado com administração de pargilina (inibidor da MAO), seguida de L-triptofano (aminoácido, precursor de da serotonina). A Síndrome serotoninérgica é caracterizada pelo aumento da atividade serotoninérgica, normalmente precipitado pelo uso de fármacos e resulta numa disfunção autonómica, alterações do estado mental e distúrbios neuromusculares.[48] [49]

O péptido neutralizou as mudanças comportamentais e de temperatura observadas no controlo, antagonizando os efeitos provocados pela administração de pargilina e L-triptofano, em separado e em simultâneo. Permitindo concluir que o BPC157, não funciona nem como substrato da serotonina, uma vez que antagonizou o efeito da pargilina, nem como indutor da síndrome serotoninérgica, uma vez que não interferiu com o L-triptofano.[48] [49]

5.2. Efeito Neuroprotetor

Para além das várias interações do péptido com vários sistemas, que afetam o SNC. O BPC157 também possui efeito neuroprotetor. Protege os neurónios somatossensoriais em ratos tratados com capsaïcina (é o componente activo das pimentas chili, usada para promover uma analgesia local, sendo indicados para o alívio da dor e tensão muscular, dor reumática ou nevrálgica).[50] Regenera o nervo ciático, neutraliza o curso da lesão cerebral traumática e recupera a função da cauda, quando esta se encontra paralisada devido à compressão da medula espinhal.[51] O péptido elimina ou atenua marcadamente as convulsões que aparecem devido ao paracetamol ou insulina.[5]

6. Abordagem toxicológica

Como referido anteriormente, o BPC157 é um pequeno segmento da proteína BPC, encontrada no suco gástrico, o que lhe confere uma boa estabilidade. A literatura científica sugere que este pode ter um potencial terapêutico de extrema importância, em danos provocados pelo *stress*, em diversos órgãos e tecidos, causados pelas mais variadas lesões. No entanto, é necessário avaliar a segurança, *in vitro* e *in vivo*, do pentadecapéptido a fim de poder ser considerada a sua utilização na terapêutica. A primeira avaliação de segurança pré-clínica de BPC157, foi realizada por Xu, *et al*, [52] em 2020, e pressupõe uma considerável importância, dada a sua implicação no progresso da investigação deste péptido e da sua aplicação sistémica, como um novo medicamento, para várias lesões. [52]

6.1. Ensaio Pré-clínico da segurança de BPC157

O estudo de Xu *et al*[52] permitiu avaliar a segurança de BPC157, através da investigação da toxicidade em dose única e dose repetida, da tolerância local, da reação anafilática, toxicidade genética e toxicidade teratogénica, em ratos, cães, coelhos e porquinhos-da-índia.[52]

6.1.1. Toxicidade em dose única

Nos estudos da toxicidade, em dose única, realizados em ratos e em cães (de raça beagle), não foi descrita nenhuma morte, após a administração de 20mg/kg e 10mg/Kg de BPC157, respetivamente. Em ambos os grupos não houve anomalias, em termos dos sinais gerais, durante os 14 dias seguintes à administração do péptido: peso corporal, comportamento, ingestão de alimentos, pele e pelos e capacidade em urinar e defecar. Após a autópsia, não se observou nenhum achado anormal, nos principais órgãos, e nenhuma diferença foi detetada, em relação aos grupos de controlo (administrados com solução salina). Sendo que a dose de BPC157, em ratos, foi 969 vezes superior à dosagem recomendada para uso clínico e 1600 vezes superior, em cães.[52]

6.1.2. Toxicidade em dose repetida

Nos estudos de toxicidade, em dose repetida, em ratos, também não foram observadas nenhuma anomalias, no que concerne aos sinais gerais e aos órgãos principais, nos regimes de BPC157 (0,2; 1 e 4mg/Kg/dia durante 28 dias). A dose mais alta utilizada no estudo foi 192 vezes superior à dosagem recomendada para ensaios clínicos. As alterações no tempo de coagulação, nas análises hematológicas e bioquímicas, estavam dentro dos intervalos normais do fornecedor. Após autópsia, não se observam alterações, com a exceção do aumento do fígado nas fêmeas, com causa atribuída ao aumento da ingestão de alimentos, por parte desse grupo. Resultados semelhantes foram obtidos quando se utilizaram cães para o estudo da toxicidade, em dose repetida. A dose de péptido administrada foi de 0,1; 0,5 e 2mg/kg/dia, durante 28 dias. Os únicos valores não concordantes com as faixas normais dos cães foram os valores de creatinina. A redução deste valor foi atribuída à eficácia do BPC157, sendo que os valores voltaram à normalidade após 14 dias de recuperação.[52]

6.1.3. Tolerância local

Após injeção intramuscular de BPC157 (100µg/mL), no quadríceps femoral direito de coelhos, não se verificou eritema, edema, hiperemia, necrose, úlceras ou outros sintomas irritantes, no local da injeção, sugerindo assim, que o péptido não é um irritante significativo para os músculos locais.[52]

6.1.4. Anafilaxia sistêmica ativa e passiva (pele)

As cobaias administradas com 33,33µg/kg de BPC157 ou 3,33µg/kg de BPC157, não exibiram sintomas de resposta alérgica, obtendo resultados semelhantes aos do grupo controle (administrado com solução salina) e diferentes aos do grupo de controle positivo (administrado com ovalbumina). Por sua vez, as cobaias do grupo de controle positivo apresentaram sintomas como tosse, espasmos e choque anafilático.[52]

Para avaliar a resposta alérgica cutânea, injetou-se um antissoro, em quatro sítios diferentes de murganhos. Após 24 horas, dividiram-se as cobaias em quatro grupos e administrou-se BPC157 (numa dose de 5µg/Kg ou 35µg/Kg), solução salina (controle negativo) ou ovalbumina (controle positivo), eluídos com azul de Evans 0,5%, para realçar a reação anticorpo - antigénio. Caso se desse uma reação alérgica, esta manifestar-se-ia através de manchas de coloração azul.

No grupo administrado com BPC157 (35µg/Kg) a manifestação de manchas azuis (diâmetros máximos de 2mm) aconteceu numa proporção de um em cada seis ratos. Não se verificando o mesmo, em ratos administrados com 5µg/Kg de BPC157, tal como, no grupo de controle. Sendo que o grupo de controle positivo, as mesmas manchas apareceram em todos os ratos com diâmetros máximos de 11,33mm. A extrapolação destes resultados permite determinar que BPC157 não apresenta resposta alérgica cutânea significativa.[52]

6.1.5. Teste de Ames

O teste de Ames é um ensaio bacteriano usado para identificar as substâncias que causam mutações genéticas. Este é conduzido, utilizando *Salmonella typhimurium*, com mutações em vários genes do operão da histidina, tornando o crescimento e a formação

de colónias dependentes deste aminácido. Quando placas, contendo esta estirpe, são expostas a substâncias capazes de induzir a formação de mutações, a função do operão é restituída e estas bactérias passam a poder crescer, de forma independente da presença de histidina no meio de cultura. Assim, um aumento do número de colónias, em relação ao grupo de controlo, implica que existe atividade mutagénica.[53] No caso, não se verificou um aumento significativo de colónias, após tratamento com BPC157 (5, 50, 500, 1000 e 2000µg/placa), na presença ou ausência de ativação metabólica.[52]

6.1.6. Teste de micronúcleo e de anomalias cromossómicas, na medula óssea

Não foi detetada nenhuma anomalia cromossómica induzida por BPC157 (às concentrações de 100µg/mL a 400µg/mL), na presença ou ausência de ativador metabólico. Nem a deteção de micronúcleos em eritrócitos policromáticos, nos regimes de 25, 50, 100mg/kg de BPC157. Esta pressupõe a primeira evidência experimental da inexistência de atividade mutagénica, do péptido, *in vitro*, dentro da faixa de dosagem aplicada.[52]

6.1.7. Teste de teratogenicidade

Dada a aplicação de BPC157, em ratos fêmea grávidas, não se observou alterações no peso ou na ingestão de alimentos das mesmas, nem a predominância de abortos ou anormalidades óbvias, nos sinais comportamentais, em comparação com o grupo controlo. A administração do péptido não provocou alterações no peso uterino ou placentário, ao contrário do que se observou no controlo positivo quando tratado com ciclofosfamida. Também não se detetou nenhuma malformação fetal, como hérnia umbilical, ausência de cauda, inversão do membro ou malformações viscerais, demonstrando que BPC157 não apresenta efeito teratogénico.[52]

Os dados toxicológicos obtidos neste ensaio demonstraram que o BPC157 foi bem tolerado, a doses altas, em murganhos, coelhos e cães. As alterações observadas estão dentro do intervalo considerado normal, sendo por isso considerado seguro.

Todos estes estudos corroboram que o BPC157 é um candidato apto à realização de ensaios clínicos.

Conclusão

Com base na evidência científica, presente até à data, esta revisão bibliográfica permite identificar o notório potencial do BPC157, como forte candidato à melhoria da terapêutica e qualidade de vida, em determinadas patologias.

Reconhece-se que o péptido apresenta um efeito citoprotetor, que se amplia a um conceito de organoproteção, tornando-se numa excelente aposta de resposta ao *stress* provocado por fatores quer internos, quer externos. A sua ação profilática e terapêutica no trato gastrointestinal, permite a resolução de problemas pré-existentes, ou não, em distúrbios complexos, como o caso das fístulas internas e externas, doença inflamatória intestinal, periodontite, síndrome do intestino curto e úlceras pépticas. Tem, também, a capacidade de manter a integridade do endotélio, de interagir com vários sistemas moleculares, como é o caso da serotonina, dopamina e óxido nítrico. O seu efeito pró-angiogénico, permite contornar a oclusão vascular e acelerar a recuperação e cicatrização de várias lesões, em variados tecidos e órgãos, fazendo dele um excelente candidato ao tratamento da DAP. Diminui a inflamação nos tecidos e neutraliza os efeitos tóxicos dos AINEs e outros irritantes exógenos. Apresenta ainda efeito cardioprotetor e neuroprotetor, interagindo no eixo intestino-cérebro.

A sua estabilidade não pressupõe nenhum problema à aplicação, em qualquer via de administração e a sua dose efetiva é extremamente baixa.

Em termos toxicológicos é possível concluir que o pentadecapéptido apresenta um perfil seguro, não apresentado LD₁, nem efeitos adversos denotados e ultrapassando, com distinção, o primeiro ensaio pré-clínico. Embora se desconheçam, na totalidade, os mecanismos de ação em que está implicado, este pode ser uma mais-valia no combate às lacunas farmacológicas ou na neutralização dos efeitos adversos provocados pelos fármacos.

Apesar da sua descoberta ser recente e dos poucos estudos realizados é no culminar do presente trabalho de investigação, que se percebe a importância da realização de mais estudos, incluindo ensaios clínicos, no âmbito desta temática. Estes ditarão o futuro, próximo, da utilização deste péptido como agente fulcral na homeostase e saúde do indivíduo.

Referências

- [1] B. Keremi, Z. Lohinai, P. Komora, S. Duhaj, K. Borsi, G. Jobbagy-Ovari, K. Kallo, A.D. Szekely, A. Fazekas, C. Dobo-Nagy, P. Sikiric, G. Varga, Antiinflammatory Effect of BPC 157 on Experimental Periodontitis in Rats, *Journal of Physiology And Pharmacology*, 60, Suppl 7, 115-122, (2009)
- [2] M.-J. Hsieh, H.-T. Liu, C.-N. Wang, H.-Y. Huang, Y. Lin, Y.-S. Ko, J.-S. Wang, V.H.-S. Chang, J.-H.S. Pang, Therapeutic potential of pro-angiogenic BPC157 is associated with VEGFR2 activation and up-regulation, *J. Mol. Med.* 95 (2017) 323–333. <https://doi.org/10.1007/s00109-016-1488-y>.
- [3] P. Sikirić, M. Petek, R. Ručman, S. Seiwert, Z. Grabarević, I. Rotkvić, B. Turković, V. Jagić, B. Mildner, M. Duvnjak, N. Lang, Z. Danilović, A. Cviko, M. Kolega, A. Sallmani, S. Djačić, M. Bura, T. Brkić, M. Banić, M. Dodig, V. Corić, V. Šimičević, M. Veljaca, D. Erceg, D. Ježek, L.J. Simunić-Banek, N. Skroza, K. Bulić, G. Buljat, M. Hanževački, V. Orihovać, D. Lučinger, J. Culig, J. Separović, A. Marović, S. Miše, E. Suchanek, W. Matoz, D. Perović, M. Gjurašin, S. Mikulandra, K. Derniković, V. Cuk, I. Karakas, A new gastric juice peptide, BPC. An overview of the stomach-stress-organoprotection hypothesis and beneficial effects of BPC, *J. Physiol.-Paris*. 87 (1993) 313–327. [https://doi.org/10.1016/0928-4257\(93\)90038-U](https://doi.org/10.1016/0928-4257(93)90038-U).
- [4] BPC157, Webpag: Chemical Book. (2017) https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB81343566_EN.htm (accessed January 9, 2021).
- [5] P. Sikiric, K.-B. Hahm, A.B. Blagaic, A. Tvrdeic, K.H. Pavlov, A. Petrovic, A. Kokot, S. Gojkovic, I. Krezic, D. Drmic, R. Rucman, S. Seiwert, Stable Gastric Pentadecapeptide BPC 157, Robert's Stomach Cytoprotection/Adaptive Cytoprotection/Organoprotection, and Selye's Stress Coping Response: Progress, Achievements, and the Future, *Gut Liver*. 14 (2020) 153–167. <https://doi.org/10.5009/gnl18490>.
- [6] P. Sikiric, The pharmacological properties of the novel peptide BPC 157 (PL-10), *Inflammopharmacology*. 7 (1999) 1–14. <https://doi.org/10.1007/s10787-999-0022-z>.
- [7] M.B. Witte, A. Barbul, Role of nitric oxide in wound repair, *Am. J. Surg.* 183 (2002) 406–412. [https://doi.org/10.1016/S0002-9610\(02\)00815-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9610(02)00815-2).
- [8] Nitric Oxide Synthase Detection Kit, Isotopic NOS1, Webpage: Merck KGaA, Darmstadt, (2017) <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/nos1>
- [9] A.B. Levine, D. Punihaole, T.B. Levine, Characterization of the Role of Nitric Oxide and Its Clinical Applications, *Cardiology*. 122 (2012) 55–68. <https://doi.org/10.1159/000338150>.
- [10] M. Lovric-Bencic, P. Sikiric, J.S. Hanzevacki, S. Seiwert, D. Rogic, V. Kusec, G. Aralica, P. Konjevoda, L. Batelja, A.B. Blagaic, Doxorubicine-congestive heart failure-increased big endothelin-1 plasma concentration: reversal by amlodipine, losartan, and gastric pentadecapeptide BPC157 in rat and mouse, *J. Pharmacol. Sci.* 95 (2004) 19–26. <https://doi.org/10.1254/jphs.95.19>.

- [11] D. Balenovic, M.L. Bencic, M. Udovicic, K. Simonji, J.S. Hanzevacki, I. Barisic, S. Kranjcevic, I. Prkacin, V. Coric, L. Brcic, M. Coric, I. Brcic, S. Borovic, B. Radic, D. Drmic, H. Vrcic, S. Seiwerth, P. Sikiric, Inhibition of methyl digoxin-induced arrhythmias by pentadecapeptide BPC 157: A relation with NO-system, *Regul. Pept.* 156 (2009) 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2009.05.008>.
- [12] Eleanor Lederer, Zygimantas C Alsauskas, Vibha Nayak, Hyperkalemia: Practice Essentials, Background, Pathophysiology, Webpage: Medscape. (2020). <https://emedicine.medscape.com/article/240903-overview#a1>
- [13] I. Barisic, D. Balenovic, R. Klicek, B. Radic, B. Nikitovic, D. Drmic, M. Udovicic, D. Strinic, D. Bardak, L. Berkopic, V. Djuzel, M. Sever, I. Cvjetko, Z. Romc, A. Sindic, M.L. Bencic, S. Seiwerth, P. Sikiric, Mortal hyperkalemia disturbances in rats are NO-system related. The life saving effect of pentadecapeptide BPC 157, *Regul. Pept.* 181 (2013) 50–66. <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2012.12.007>.
- [14] A. Robert, Cytoprotection by prostaglandins, *Gastroenterology.* 77 (1979) 761–767.
- [15] H. Selye, The stress concept in 1955, *J. Chronic Dis.* 2 (1955) 583–592. [https://doi.org/10.1016/0021-9681\(55\)90155-7](https://doi.org/10.1016/0021-9681(55)90155-7).
- [16] P. Sikiric, S. Seiwerth, S. Deškovic, Z. Grabarevic, A. Marovic, R. Rucman, M. Petek, P. Konjevoda, S. Jadrijevic, D. Perovic, G. Aralica, B. Turkovic, New model of cytoprotection adaptive cytoprotection in rats: endogenous small irritants, antiulcer agents and indomethacin, *European Journal of Pharmacology* 364 (1999) 23–31
- [17] J. Saad, D. Mathew, Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs Toxicity, in: StatPearls, StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), (2020). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526006/>
- [18] P. Sikiric, S. Seiwerth, R. Rucman, B. Turkovic, D.S. Rokotov, L. Brcic, M. Sever, R. Klicek, B. Radic, D. Drmic, S. Ilic, D. Kolenc, G. Aralica, H. Safic, J. Suran, D. Rak, S. Dzidic, H. Vrcic, B. Sebecic, Toxicity by NSAIDs. Counteraction by Stable Gastric Pentadecapeptide BPC 157, *Current Pharmaceutical Design*, (2013) 19, 76–83
- [19] S. Ilic, D. Drmic, K. Zarkovic, D. Kolenc, L. Brcic, B. Radic, V. Djuzel, A.B. Blagaic, Z. Romc, S. Dzidic, L. Kalogjera, S. Seiwerth, P. Sikiric, Ibuprofen hepatic encephalopathy, hepatomegaly, gastric lesion and gastric pentadecapeptide BPC 157 in rats, *Eur. J. Pharmacol.* 667 (2011) 322–329. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.05.038>.
- [20] D. Drmic, D. Kolenc, S. Ilic, L. Bauk, M. Sever, A. Zenko Sever, K. Luetic, J. Suran, S. Seiwerth, P. Sikiric, Celecoxib-induced gastrointestinal, liver and brain lesions in rats, counteraction by BPC 157 or L-arginine, aggravation by L-NAME, *World J. Gastroenterol.* 23 (2017) 5304. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i29.5304>.
- [21] S. Ilic, D. Drmic, S. Franjic, D. Kolenc, M. Coric, L. Brcic, R. Klicek, B. Radic, M. Sever, V. Djuzel, M. Filipovic, Z. Djakovic, V. Stambolija, A.B. Blagaic, I. Zoricic, M. Gjurasin, M. Stupnisek, Z. Romc, K. Zarkovic, S. Dzidic, S. Seiwerth, P. Sikiric, Pentadecapeptide BPC 157 and its effects on a NSAID toxicity model: Diclofenac-induced gastrointestinal, liver, and encephalopathy lesions, *Life Sci.* 88 (2011) 535–542. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2011.01.015>.
- [22] N. Lojo, Z. Rasic, A. Zenko Sever, D. Kolenc, D. Vukusic, D. Drmic, I. Zoricic, M. Sever, S. Seiwerth, P. Sikiric, Effects of Diclofenac, L-NAME, L-Arginine, and

Pentadecapeptide BPC 157 on Gastrointestinal, Liver, and Brain Lesions, Failed Anastomosis, and Intestinal Adaptation Deterioration in 24 Hour-Short-Bowel Rats, PLOS ONE. 11 (2016) e0162590. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162590>.

- [23] K. Norrby, In vivo models of angiogenesis, *J. Cell. Mol. Med.* 10 (2006) 588–612. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2006.tb00423.x>.
- [24] Masabumi Shibuya, Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor (VEGFR) Signaling in Angiogenesis, *Genes Cancer*. Department of Molecular Oncology, Tokyo Medical and Dental University, (2011) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3411125/>
- [25] M. Moutinho, I. Simões, S. Rodrigues, D. Abreu, E. Silva, P. Sousa, J.F.E. Fernandes, Impacto global da doença arterial obstrutiva periférica em Portugal: Estudo num período de oito anos, *Acta Med. Port.* 32 (2019) 348–354. <https://doi.org/10.20344/amp.10822>.
- [26] T. Huang, J. Gu, K. Zhang, L. Sun, X. Xue, C. Zhang, Z. Shu, N. Mu, wangqian Zhang, Y. Wang, Y. Zhang, W. Zhang, Body protective compound-157 enhances alkali-burn wound healing in vivo and promotes proliferation, migration, and angiogenesis in vitro, *Drug Des. Devel. Ther.* (2015) 2485. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S82030>.
- [27] E.A. Kang, Y.-M. Han, J.M. An, Y.J. Park, P. Sikiric, D.H. Kim, K.A. Kwon, Y.J. Kim, D. Yang, H. Tchah, K.B. Hahm, BPC157 as Potential Agent Rescuing from Cancer Cachexia, *Curr. Pharm. Des.* 24 (2018) 1947–1956. <https://doi.org/10.2174/1381612824666180614082950>.
- [28] S. Radeljak, S. Seiwerth, P. Sikiric, BPC 157 inhibits cell growth and VEGF signalling via the MAPK kinase pathway in the human melanoma cell line, *Melanoma Res.* 14 (2004) A14.
- [29] P. Sikiric, J. Šeparovic, G. Buljat, T. Anic, D. Stancic-Rokotov, D. Mikus, B. Duplancic, A. Marovic, I. Zoricic, I. Prkacin, M. Lovric-Bencic, G. Aralica, T. Ziger, D. Perovic, N. Jelovac, G. Dodig, I. Rotkvic, S. Mise, S. Seiwerth, B. Turkovic, Z. Grabarevic, M. Petek, R. Rucman, Gastric mucosal lesions induced by complete dopamine system failure in rats. The effects of dopamine agents, ranitidine, atropine, omeprazole and pentadecapeptide BPC 157, *J. Physiol.-Paris.* 94 (2000) 105–110. [https://doi.org/10.1016/S0928-4257\(00\)00147-9](https://doi.org/10.1016/S0928-4257(00)00147-9).
- [30] Mia L Manabat, Michael H Piper, Intestinal Motility Disorders: Background, Pathophysiology, Etiology, Webpage: Medscape. (2020). <https://emedicine.medscape.com/article/179937-overview>
- [31] X.-Y. Wang, M. Qu, R. Duan, D. Shi, L. Jin, J. Gao, J.D. Wood, J. Li, G.-D. Wang, Cytoprotective Mechanism of the Novel Gastric Peptide BPC157 in Gastrointestinal Tract and Cultured Enteric Neurons and Glial Cells, *Neurosci. Bull.* 35 (2019) 167–170. <https://doi.org/10.1007/s12264-018-0269-8>.
- [32] S. Skorjanec, Z. Dolovski, I. Kocman, L. Brcic, A. Blagaic Boban, L. Batelja, M. Coric, M. Sever, R. Klicek, L. Berkopic, B. Radic, D. Drmic, D. Kolenc, S. Ilic, V. Cesarec, A. Tonkic, I. Zoricic, S. Mise, M. Staresinic, M. Ivica, M. Lovric Bencic, T. Anic, S. Seiwerth, P. Sikiric, Therapy for Unhealed Gastrocutaneous Fistulas in Rats as a Model for Analogous Healing of Persistent Skin Wounds and Persistent Gastric Ulcers: Stable Gastric Pentadecapeptide BPC 157, Atropine, Ranitidine, and

- Omeprazole, *Dig. Dis. Sci.* 54 (2009) 46–56. <https://doi.org/10.1007/s10620-008-0332-9>.
- [33] V. Cesarec, T. Becejac, M. Misic, Z. Djakovic, D. Olujic, D. Drmic, L. Brcic, D.S. Rokotov, S. Seiwerth, P. Sikiric, Pentadecapeptide BPC 157 and the esophagocutaneous fistula healing therapy, *Eur. J. Pharmacol.* 701 (2013) 203–212. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2012.11.055>.
- [34] P. Sikiric, S. Jadrijevic, S. Seiwerth, T. Sosa, S. Deskovic, D. Perovic, G. Aralica, Z. Grabarevic, R. Rucman, M. Petek, V. Jagic, B. Turkovic, T. Ziger, I. Rotkvic, S. Mise, I. Zoricic, B. Sebecic, L. Patrlj, B. Kocman, M. Sarlija, D. Mikus, J. Šeparovic, M. Hanzevacki, M. Gjurašin, P. Miklic, G. Buljat, Long-lasting cytoprotection after pentadecapeptide BPC 157, ranitidine, sucralfate or cholestyramine application in reflux oesophagitis in rats, *J. Physiol.-Paris.* 93 (1999) 467–477. [https://doi.org/10.1016/S0928-4257\(99\)00124-2](https://doi.org/10.1016/S0928-4257(99)00124-2).
- [35] Úlceras: sabe o que são? | CUF, CUF. (2020). <https://www.cuf.pt/mais-saude/ulceras-sabe-o-que-sao>
- [36] BS Anand, Faisal Aziz, Simmy Bank, Jeffrey Glenn Bowman, Carmen Cuffari, Peptic Ulcer Disease: Background, Anatomy, Pathophysiology, Webpage: Medscape (2020). <https://emedicine.medscape.com/article/181753-overview#a2>
- [37] S. Szabo, M. Yoshida, J. Filakovszky, G. Juhasz, “Stress” is 80 Years Old: From Hans Selye Original Paper in 1936 to Recent Advances in GI Ulceration, *Current Pharmaceutical Design*, (2017) 23, 4029-4041 <https://doi.org/10.2174/1381612823666170622110046>.
- [38] X.-C. Xue, Y.-J. Wu, M.-T. Gao, W.-G. Li, N. Zhao, Z.-L. Wang, C.-J. Bao, Z. Yan, Y.-Q. Zhang, Protective effects of pentadecapeptide BPC 157 on gastric ulcer in rats, *World J. Gastroenterol.* 10 (2004) 1032. <https://doi.org/10.3748/wjg.v10.i7.1032>.
- [39] C.R. Parrish, J.K. DiBaise, Managing the Adult Patient With Short Bowel Syndrome, *Gastroenterol. Hepatol.* 13 (2017) 600–608.
- [40] M. Sever, R. Klicek, B. Radic, L. Brcic, I. Zoricic, D. Drmic, M. Ivica, I. Barisic, S. Ilic, L. Berkopic, A.B. Blagaic, M. Coric, D. Kolenc, H. Vrcic, T. Anic, S. Seiwerth, P. Sikiric, Gastric Pentadecapeptide BPC 157 and Short Bowel Syndrome in Rats, *Dig. Dis. Sci.* 54 (2009) 2070–2083. <https://doi.org/10.1007/s10620-008-0598-y>.
- [41] William A Rowe, Gary R Lichtenstein, *Inflammatory Bowel Disease: Practice Essentials, Background, Pathophysiology, Webpage: Medscape.* (2020). <https://emedicine.medscape.com/article/179037-overview#a3>
- [42] Y. Aratani, Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function, *Arch. Biochem. Biophys.* 640 (2018) 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.01.004>.
- [43] P. Sikiric, S. Seiwerth, R. Rucman, B. Turkovic, D.S. Rokotov, L. Brcic, M. Sever, R. Klicek, B. Radic, D. Drmic, S. Ilic, D. Kolenc, H. Vrcic, B. Sebecic, Stable gastric pentadecapeptide BPC 157: novel therapy in gastrointestinal tract, *Curr. Pharm. Des.* 17 (2011) 1612–1632. <https://doi.org/10.2174/138161211796196954>.
- [44] P. Sikiric, S. Seiwerth, R. Rucman, B. Turkovic, D. S. Rokotov, L. Brcic, M. Sever, R. Klicek, B. Radic, D. Drmic, S. Ilic, D. Kolenc, V. Stambolija, Z. Zoricic, H. Vrcic, B. Sebecic, Focus on Ulcerative Colitis: Stable Gastric Pentadecapeptide BPC 157,

- [45] M. Carabotti, A. Scirocco, M.A. Maselli, C. Severi, The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems, *Ann. Gastroenterol. Q. Publ. Hell. Soc. Gastroenterol.* 28 (2015) 203–209.
- [46] Jerry L Halverson, Ravinder N Bhalla, Pascale Moraille-Bhalla, Louise B Andrew, Rachel C Leonard, Depression: Practice Essentials, Background, Pathophysiology, Webpage: Medscape (2020). <https://emedicine.medscape.com/article/286759-overview#a3>
- [47] P. Sikiric, J. Šeparovic, G. Buljat, T. Anic, D. Stancic-Rokotov, D. Mikus, A. Marovic, I. Prkacin, B. Duplancic, I. Zoricic, G. Aralica, M. Lovric-Bencic, T. Ziger, D. Perovic, I. Rotkvic, S. Mise, M. Hanzevacki, V. Hahn, S. Seiwerth, B. Turkovic, Z. Grabarevic, M. Petek, R. Rucman, The antidepressant effect of an antiulcer pentadecapeptide BPC 157 in Porsolt's test and chronic unpredictable stress in rats. A comparison with antidepressants, *J. Physiol.-Paris.* 94 (2000) 99–104. [https://doi.org/10.1016/S0928-4257\(00\)00148-0](https://doi.org/10.1016/S0928-4257(00)00148-0).
- [48] A. Boban Blagaic, V. Blagaic, M. Mirt, N. Jelovac, G. Dodig, R. Rucman, M. Petek, B. Turkovic, T. Anic, M. Dubovecak, M. Staresinic, S. Seiwerth, P. Sikiric, Gastric pentadecapeptide BPC 157 effective against serotonin syndrome in rats, *Eur. J. Pharmacol.* 512 (2005) 173–179. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.02.033>.
- [49] J Neurosci Nurs, Serotonin Syndrome, Webpage: Medscape. (2006) 38(2):102-105. . <http://www.medscape.com/viewarticle/547426>
- [50] Direção-Geral da Saúde, Emplastros medicamentosos de capsáicina ou de sementes de mostarda - enquadramento regulamentar, (2011). <https://www.infarmed.pt/documents/15786/1109426/8665754.PDF/b4493b92-8E1D-482A-b3f2-ee5b1dad87af?version=1.0>.
- [51] D. Perovic, G. Buljat, D. Kolenc, D. Drmic, S. Seiwerth, P. Sikiric, Spinal Cord Injury in Rat – Therapeutic Effect of Pentadecapeptide BPC 157, *FASEB J.* 29 (2015) 617.5. https://doi.org/10.1096/fasebj.29.1_supplement.617.5.
- [52] C. Xu, L. Sun, F. Ren, P. Huang, Z. Tian, J. Cui, W. Zhang, S. Wang, K. Zhang, L. He, W. Zhang, C. Zhang, Q. Hao, Y. Zhang, M. Li, W. Li, Preclinical safety evaluation of body protective compound-157, a potential drug for treating various wounds, *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 114 (2020) 104665. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2020.104665>.
- [53] J.G. Hengstler, F. Oesch, Encyclopedia of Genetics, Ames Test - an overview ,Webpage: ScienceDirect Topics,(2001). <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/ames-test>

Capítulo 2 – Estágio em Farmácia Comunitária

Introdução

O Estágio Curricular em Farmácia Comunitária foi realizado na Farmácia da Praça (FP) com início a 3 de fevereiro, interrompido temporariamente devido à pandemia provocada pelo vírus SARS-CoV-2-, entre o dia 16 de março e o 18 de maio e terminei o meu estágio a 14 de agosto de 2020.

1. Organização e caracterização da Farmácia:

1.1. Enquadramento e localização

A FP localiza-se na Rua Paio Galvão 24-26, no centro histórico de Guimarães, distrito de Braga e é uma das farmácias mais antigas de Guimarães. Gerida pela atual proprietária e Diretora Técnica Dr^a Maria Berta Oliveira Amado Braga Pereira. Mantém-se sob a mesma administração desde o dia 11 de abril de 2014.

A 150 metros encontra-se a Farmácia Hórus e a 170 metros a Farmácia Barbosa. Apesar da proximidade entre farmácias, o facto de se encontrar numa das ruas principais do centro histórico de Guimarães, e de estar rodeada de muitas lojas de comércio local, bem como da Escola Secundária Francisco de Holanda, permite uma amplitude muito alargada de utentes, de diferentes faixas etárias e de diferentes nacionalidades - graças ao turismo.

1.2. Espaço Físico da Farmácia

1.2.1. Espaço Exterior

A FP é facilmente identificada através do símbolo cruz verde luminosa na fachada exterior, cumprindo assim com o exigido no artigo 28º do Decreto-Lei n.º 307/2007 de 31 de agosto [1] e as Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária (BPF) da Ordem dos Farmacêuticos (OF). [2] No seu exterior é ainda possível observar a identificação da Diretora Técnica da Farmácia da Praça, bem como, o contacto da

farmácia, o horário de funcionamento da mesma, as farmácias que estão de serviço semanalmente e os serviços prestados pela FP, preenchendo deste modo todas as exigências do artigo supracitado. [1]

Relativamente às condições de acessibilidade a pessoas com mobilidade condicionada, a FP cumpre as exigências do artigo 10º do Decreto-Lei nº307/2007 de 31 de agosto [1] e com as BPF da OF, [2] uma vez que não possui desníveis que impeçam o acesso das mesmas.

1.2.2. Espaço Interior

Na entrada, à medida que nos aproximamos da sala de atendimento ao público podemos observar o sinal de proibido fumar, bem como o de proibido a entrada de animais e o sinal de atendimento prioritário – destinado a pessoas com incapacidade ou deficiência, pessoas idosas, grávidas e pessoas com crianças de colo, tal como consta no 3º Artigo do Decreto-Lei nº58/2016 de 29 de agosto. [3]

A FP possui também a autorização da Comissão Nacional de Proteção de dados para o visionamento e /ou gravação de imagens, bem como a afixação do aviso de utilização de meios de vigilância à distância, num local bem visível, tal como consta no Artigo 91º da Portaria nº273/2013, de 20 de agosto. [4]

Ainda à entrada da sala de atendimento encontra-se a informação que delimita o número máximo de pessoas que podem estar dentro da farmácia (3 pessoas), o aviso da obrigatoriedade do uso de máscara ou viseira – cumprindo assim com o Artigo 13º - B do Decreto-Lei n.º24-A/2020 de 29 de maio [5] – e algumas informações pertinentes sobre a COVID-19, tais como: os sintomas mais frequentes, as medidas de prevenção e o número da saúde 24.

No que respeita às instalações a FP obedece às exigências do o artigo 29º do Decreto-Lei n.º 307/2007, de 31 de agosto, [1] uma vez que dispõem das seguintes divisões:

- Sala de atendimento ao público;
- Laboratório;
- Instalações sanitárias;
- Armazém;

- Gabinete de atendimento personalizado, exclusivo para a prestação de serviços Farmacêuticos.

Aprofundando cada uma destas repartições e começando pela sala de atendimento ao público, esta é bem iluminada e ventilada, proporcionando ao utente um ambiente profissional e calmo, que privilegia a comunicação e a privacidade do mesmo, de acordo com as BPF. [2] Dispõe de 4 balcões, sendo que desde o aparecimento dos primeiros casos de Covid-19 em Portugal, limitou-se a zona de atendimento a apenas 3 balcões e estes estão devidamente aprovisionados de uma placa em acrílico transparente, para assegurar o devido distanciamento social e a segurança, tanto do utente, como do Profissional atrás do balcão.

Os Medicamento Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRC) encontram-se atrás do balcão, assim como os Suplementos Alimentares e os Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica de Uso Veterinário. Os demais produtos de saúde (produtos de higiene oral, higiene íntima, dermocosmética, podologia, ortopedia, puericultura e produtos de origem biológica) encontram-se estrategicamente dispostos pela farmácia em gôndolas e lineares, devidamente organizados, de modo a ser evidente para o utente a sua correta identificação.

Logo a seguir à sala de atendimento encontra-se o Gabinete de atendimento personalizado, que tem como função proporcionar um ambiente de maior privacidade ao utente, mas que serve também para determinar e avaliar parâmetros bioquímicos e fisiológicos, como por exemplo a medição de Glicémia e da Pressão Arterial, reconstituir suspensões orais, realizar consultas de Nutrição, realizar o teste NADAL® (imunoensaio para a deteção de imunoglobolinas anti SARS-CoV-2), administrar vacinas que não pertençam ao Plano Nacional de Vacinação (PNV) e injetáveis. Este dispõe de todos os elementos obrigatórios e equipamentos necessários para a realização destas tarefas.

Imediatamente a seguir aos balcões, à esquerda, encontram-se as instalações sanitárias, devidamente equipadas para facilitar a sua utilização por pessoas incapacitadas ou deficientes. À direita temos a entrada do armazém que não se encontra acessível aos utentes, estando estritamente reservado ao staff da FP. Este divide-se em diferentes áreas:

- Área de armazenamento:
 - Área de armazenamento de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM) de uso agudo;

- Área de armazenamento de medicamentos, cujo prazo de validade termina em 6 meses;
 - Cofre de armazenamento de psicotrópicos e estupefacientes;
 - Área destinada aos medicamentos que serão devolvidos ao armazenista ou cujo prazo de validade já terminou;
 - Gavetas, onde se encontram os MSRM de referência, de uso crónico, bem como todos os MSRM de uso oftálmico, nasal, auricular e vaginal, todas as gotas e suspensões orais, saquetas, ampolas, medicamentos de uso cutâneo, injetáveis, entre outros;
 - Frio – Área destinada ao armazenamento de produtos cujas condições de estabilidade variam entre os 2°C e os 8°C
 - Área destinada ao armazenamento dos Medicamentos genéricos de uso crónico.
- Área de receção de encomendas e etiquetagem;
 - Área de arrumação de produtos reservados (já faturados ou não faturados), sendo estes acompanhados de um documento que identifica o produto e o utente a se destina, data do pedido e profissional responsável pela venda ou reserva;
 - Área de arrumação de dossiers relativos ao ano atual.

Ainda no piso de baixo a FP possui o Gabinete da Diretora Técnica da farmácia, onde a mesma cumpre com as suas funções e onde se realizam todas as reuniões. Para além deste gabinete e da mesa de reuniões, a FP possui ainda uma zona de recolhimento, específica para as Noites de Serviço na Farmácia.

No segundo andar, a FP divide-se em:

- Laboratório
- Vestiário
- Sala de Refeições
- Livraria

Apesar de a FP não realizar manipulados, o Laboratório dispõe de todo o material obrigatório, descrito no anexo da Deliberação nº 1500/2004, de 7 de dezembro, tal como banho de água termostaticado. [6]

A livraria contém todos os documentos de carácter obrigatório, como a Farmacopeia Portuguesa, o Prontuário Terapêutico (PT), as Fichas de Preparação de Manipulados, o Livro de reclamações e todos os documentos relativos à Farmácia de anos anteriores.

1.3. Recursos Informáticos:

Grande parte das atividades inerentes à farmácia podem ser geridas a partir do sistema informático, que no caso da FP é o *Sifarma®2000*. Este software é uma das ferramentas mais úteis para o Farmacêutico, uma vez que orienta inúmeras funções como: a criação e receção de encomendas, devoluções, gestão de stocks, administração de fichas de utentes, faturação mensal e fecho do mês. Para além de todas estas funções o *Sifarma®2000* tem ainda uma componente de apoio ao atendimento, que permite auxiliar o Farmacêutico na dispensa de medicamentos e produtos de saúde, através da disponibilização de informações relevantes sobre cada produto e a sua correta utilização (posologia, efeitos adversos, composição e interações). Esta ferramenta é um importante apoio para que o atendimento e dispensa de medicamentos sejam feitos de forma competente e tornou o meu processo de iniciação ao balcão, muito mais fácil.

Para além deste recurso informático, existem outras plataformas que auxiliam o Farmacêutico, como é o caso da ANF online e Infomed.

1.4. Quadro e funções do pessoal da Farmácia:

A equipa de trabalho da FP é constituída por 7 pessoas, sendo que 4 são Farmacêuticos, (Dra. Maria Berta Braga, Dr. Tiago Fernandes, Dra. Karina Martins, Dra. Célia Marques), constituindo estes a maioria dos trabalhadores da FP, tal como o indicado no artigo 23º do Decreto-Lei n.º 307/2007 de 31 de agosto, [1] duas são Técnicas de Farmácia (Dra. Diana Rodrigues e Dra. Patrícia Ferreira) e a D. Rosa Vieira, que se dedica à limpeza e higienização da Farmácia. A Diretora Técnica e proprietária da FP é a Dra. Maria Berta e é a ela que compete, não só, o trabalho de gestão dos recursos financeiros, como também o de assegurar o cumprimento das regras deontológicas e a gestão da equipa

desta farmácia. Na sua ausência quem assume as suas funções de gestão de recursos humanos e financeiros é o Dr. Tiago (Farmacêutico Adjunto).

Todos os elementos partilham a função de atendimento ao público. Um elemento, desta equipa, fica exclusivamente encarregue da receção e armazenamento das encomendas durante o período de uma semana. Esta tarefa é rotativa, o que significa que, ao fim de cada semana, muda a pessoa encarregue de a realizar. Cada elemento desta equipa tem à sua responsabilidade produtos de uma ou mais marcas e cujas funções passa por divulgar e gerir stocks referentes das mesmas, bem como participar das reuniões com os respetivos delegados das marcas.

Todos, sem exceção, são o exemplo do profissionalismo exigido aos melhores do ramo e mostraram-se sempre prontos a ajudar-me em todas as dúvidas e dilemas, por mais triviais que fossem. A equipa trabalha de forma muito coordenada e na base da entreatajuda, o que tornou a minha experiência de estágio muito mais enriquecedora.

1.5. Horário de funcionamento

A FP encontra-se aberta todos os dias da semana, exceto ao Domingo, quando não faz serviço. De segunda a Sexta mantém-se aberta ininterruptamente desde as 8:30h da manhã às 19:30h, aos Sábados a farmácia abre às 9h e fecha às 19h. Faz serviços de 10 em 10 dias. O horário que acordei, desde o início, com a Dr. Berta foi o seguinte, das 9:30 às 13:30 e das 14:30 às 18:30, resumindo-se num total de 8h diárias, tendo flexibilidade para fazer qualquer outro horário. Desde logo solicitei a possibilidade de estar presente, pelo menos, numa abertura e num fecho de dia, bem como, no fecho do último dia do mês e ao Fim de Semana. Não só para tentar perceber que tipo de utente poderia aparecer na farmácia, noutros dias/horários, como também para ficar por dentro de todos os processos que são realizados, nas diferentes horas e etapas do mês. Isso permitiu-me ter uma experiência ainda mais abrangente do ponto de vista profissional, porque tive uma perspetiva pormenorizada do trabalho realizado numa Farmácia.

2. Medicamentos e outros produtos de saúde

A FP apresenta uma variedade de medicamentos (genéricos e de referência) e produtos de saúde muito vasta, desde medicamentos e produtos homeopáticos, produtos fitoterapêuticos, produtos para alimentação especial e dietéticos, produtos cosméticos e dermocosméticos, dispositivos médicos e MUV, o que me permitiu ter uma ideia generalizada dos vários produtos que uma farmácia tem ao dispor da população.

3. Aprovisionamento e Armazenamento

O aprovisionamento constitui um combinado de operações técnicas, administrativas e económicas, que colocam à disposição dos utentes produtos de qualidade, na quantidade correta, ao mais baixo custo e da forma mais rápida possível, de modo a satisfazer as necessidade/exigências do utente.

Tanto o aprovisionamento, como o armazenamento estão dentro das várias tarefas que constituem as funções de um Farmacêutico e são a base de um serviço de qualidade. Estas prendem-se com a seleção de fornecedores, criação de encomendas, receção das mesmas, aquisição de medicamentos e produtos de saúde, armazenamento dos mesmos, verificação dos prazos de validade de cada produto, devolução, etiquetagem, entre outras. Foram estas as tarefas, nas quais mais me foquei nas primeiras três semanas de estágio, não só para aprender a trabalhar com o programa *Sifarma®2000*, mas também para me familiarizar com a organização da Farmácia e fazer a associação entre os fármacos estudados na faculdade e os nomes comerciais dos mesmos ou entre os vários laboratórios genéricos.

3.1. Seleção de Fornecedores

A FP trabalha com 4 distribuidores grossistas: Botelho & Rodrigues, Lda., A. Sousa & Cia, Lda., Alliance & Healthcare e Empifarma, sendo que os dois primeiros são empresas de menor dimensão com sede no Norte de Portugal. Algumas das encomendas também podem ser feitas diretamente ao Laboratório, principalmente quando se trata de produtos cosméticos, MNSRM e alguns medicamentos genéricos (MG).

O critério de seleção de um fornecedor tem em conta vários fatores, tais como: variedade de produtos, preços da aquisição dos mesmos, rapidez e viabilidade da entrega, número de entregas diárias, descontos e bonificações, facilidade de pagamento e política de devoluções.

Durante o meu estágio, ocorreu uma alteração contratual entre a Empifarma e a FP, e deixaram-se de fazer encomendas para a distribuidora, uma vez que o transporte teria de ser pago e em termos de rentabilidade deixou de ser benéfico para a farmácia.

3.2. Aquisição dos medicamentos e produtos de saúde

Na FP são realizados vários tipos de encomendas, sendo que as mesmas se dividem em dois grupos, tendo em conta a quem se destina a encomenda: aos grossistas ou aos laboratórios.

- Encomendas realizadas aos distribuidores grossistas:

Estas encomendas, geralmente, são de menores dimensões e com a finalidade de satisfazer uma entrega mais rápida/urgente, que se articula com as necessidades diárias da Farmácia. Dentro deste grupo de encomendas existem 4 tipos de encomendas:

1. Diárias – este tipo de encomenda é realizado duas vezes por dia, sendo que o horário de envio das mesmas depende de fornecedor para fornecedor, como é possível observar na tabela 1. Estes horários sofreram algumas alterações após o início dos primeiros casos de COVID-19 em Portugal.

São criadas automaticamente pelo *Sifarma*^{®2000}, quando determinado produto atinge o stock mínimo, previamente estipulado para cada produto, tendo em conta a rotatividade do mesmo, para o fornecedor preferencial. Apesar de serem criadas de forma automática, ainda requerem a análise e confirmação do Farmacêutico ou Técnico de Farmácia e só então serão enviadas ao fornecedor via modem.

2. Instantâneas – são normalmente criadas via *Sifarma®2000* quando, durante a dispensa, o medicamento e/ou produto de saúde não se encontra disponível. É possível, através de um sistema de cores do software, consultar que fornecedor dispõe, ou não, de determinado medicamento no momento – se aparecer a verde significa que o grossista dispõe do medicamento, se aparecer a vermelho significa que não dispõe, amarelo significa que tem o produto, mas está sujeito a disponibilidade, ou seja, não garantem a entrega e azul significa que estará disponível em dois dias úteis. Também é possível consultar que quantidade de produto dispõe, qual o preço e as condições especiais às quais o produto está sujeito.

3. Manuais – qualquer tipo de encomenda criada manualmente no sistema informático, consoante a liberdade do utilizador e independente dos stocks. Pode, por exemplo, ser feita através do telefone. Neste caso, assim que as encomendas chegam é necessário gerar uma encomenda para depois a rececionar.

4. Via Verde do Medicamento – permite à farmácia a aquisição de determinados medicamentos, listados no Anexo I da Deliberação nº481/2018, de 17 de abril. [7] Este tipo de encomenda pode ser ativada quando o medicamento não se encontra em stock, mediante a justificação de uma receita válida. O fornecedor satisfaz esse pedido, no prazo máximo de 48h, com o stock que se encontra reservado para este tipo de encomendas, atribuído pelo detentor da Autorização de Introdução no Mercado (AIM).
 - Encomendas diretas aos laboratórios:

Estas encomendas são feitas de forma periódica. Podem ser feitas mensal, trimestral ou anualmente e, normalmente exigem um mínimo de produtos para obter determinada bonificação ou desconto. São, portanto, encomendas maiores e que exigem a prévia discussão das condições por parte da Diretora Técnica e do delegado da marca. Estes são alguns dos laboratórios com os quais a FP trabalhava: GSK, Loreal.

Tabela 1- Descrição do horário de realização e chegada de encomendas

Fornecedor	Manhã		Tarde		Noite	
	Realização da Encomenda	Chegada da Encomenda	Realização da Encomenda	Chegada da Encomenda	Realização da Encomenda	Chegada da Encomenda
Botelho & Rodrigues, Lda.	7h00	9h30	17h00	18h30	21h00	10h30
	12h30	14h30				
A. Sousa & Cia, Lda.	12h30	15h30	---	---	19h30	9h30
Alliance & Healthcare	13h00	15h00	---	---	21h00	09h00

3.3. Receção de Encomendas

Depois de realizadas as encomendas, os fornecedores entregam-nas diretamente no armazém, na zona de receção de encomendas da farmácia, de acordo com o horário previsto. Durante o meu estágio, esta medida foi alterada, para diminuir o risco de contaminação por SARS-CoV-2. As encomendas passaram a ser entregues numa área reservada, à entrada da Farmácia, onde são posteriormente pulverizadas com hipoclorito de sódio e só depois transportadas para o Armazém. As encomendas vêm acondicionadas de forma apropriada, consoante as exigências do produto (ex: Produtos de frio), acompanhadas de uma fatura ou guia de remessa, nas quais constam as informações subsequentemente inumeradas, que o Farmacêutico ou Técnico de Farmácia terá de rever e posteriormente assinar aquando da sua receção:

- Identificação da farmácia;
- Número de identificação e data do documento;
- Designação do produto bem como respetivo Código Nacional de Produto (CNP);
- Quantidade enviada de cada produto e respetiva justificação, quando este está em falta;
- Preço de Venda à Farmácia (PVF);

- Preço de Venda ao Público (PVP), quando se trata de um medicamento sujeito a receita médica. Se o medicamento e/ou produto de saúde for de venda livre, o PVP não aparece, uma vez que quem determina a margem de lucro é a própria farmácia;
- Imposto de Valor Acrescentado (IVA);
- Bonificações;
- Total do valor faturado.

Os produtos prioritários, no que concerne à receção, são todos aqueles que possuem condições especiais, tais como os produtos de conservação no frigorífico ou os produtos que têm mais urgência de entrada no sistema, como os previamente pagos ou reservados e cujo o stock se encontra a zero.

Relativamente ao processo de receção em si, este é realizado através do *Sifarma®2000*, no separador “Receção de Encomendas”. Após colocar o número da fatura ou guia de remessa e o seu valor total, inicia-se receção propriamente dita, passando através do *scanner* o código de barras de cada produto, ao mesmo tempo que se verifica a data de validade do mesmo e se o PVP inscrito na caixa corresponde com o PVP que aparece no sistema (no caso dos MSRM). As respetivas datas de validade só se alteram, informaticamente, se o produto estiver com o stock a zero na farmácia ou se possuir uma data inferior à que está guardada no *software*.

Concluída a introdução de todos os produtos, coloca-se a lista por ordem alfabética, introduz-se o valor do PVF e confirma-se o número de embalagens de cada produto através do CNP. No final, o valor total dos produtos rececionados tem de ser igual ao valor total da fatura. Caso estes estejam em conformidade, avaliam-se as margens dos MNSRM e confirma-se o PVP dos MSRM, que corresponde ao preço máximo ao qual estes podem ser vendidos. Este valor é calculado através do Preço de Venda ao Armazenista (PVA); a margem de comercialização do distribuidor grossista; a margem de comercialização retalhista; a taxa sobre a comercialização de medicamentos e o IVA, tal como indica o artigo 5º do Decreto-Lei nº112/2011, de 29 de novembro. [8]

Apesar de ser um processo relativamente simples, exige bastante atenção para não incorrer em equívocos. Estes são alguns dos erros mais frequentes:

- O código de barras não foi lido com sucesso;

- O código de barras foi lido mais do que uma vez;
- Acidental troca do número de embalagens em produtos com nomes parecidos;
- Acidental troca do PVF em produtos com nomes parecidos ou que possuam ordem alfabética diferente da do sistema;

Caso todos os parâmetros estejam conforme dá-se por terminada a receção de encomenda, transfere-se os produtos em falta para outro distribuidor e notifica-se o INFARMED, Autoridade Nacional de Medicamento e Produtos de Saúde, I.P., acerca dos mesmos. De seguida, imprime-se as etiquetas para a marcação de produtos de venda livre e arrumam-se os produtos, de acordo com a organização estipulada pela farmácia.

Uma nota importante relativa aos psicotrópicos, por serem medicamentos altamente controlados, chegam à farmácia juntamente com um documento, onde consta o número de requisição. Este documento é carimbado e assinado pela Diretora Técnica e o original é devolvido ao fornecedor.

3.4. Devoluções de medicamentos e produtos de saúde e regularização de devoluções

Durante a receção de encomendas podem ser denotados alguns erros/anomalias, tais como: produtos faturados, que não foram pedidos; produtos que vêm com validade reduzida ou fora do prazo de validade; produtos com a embalagem danificada ou produtos cujo PVP está mal marcado. Perante qualquer uma destas situações é necessário proceder à devolução do produto ao fornecedor. Também terão de ser devolvidos todos os produtos sobre os quais se recebe notificação do INFARMED para a remoção do mercado. A devolução é realizada através da criação de uma nota de devolução pelo *Sifarma®2000*, onde deve constar a identificação do fornecedor, o produto a devolver, a quantidade do mesmo, o motivo pelo qual se está a realizar a devolução, o PVF e o número que identifica a fatura ou guia de remessa, na qual o produto veio faturado. Este documento é impresso em triplicado e todas as réplicas são carimbadas, assinadas e datadas pelo Farmacêutico responsável pela devolução. O original e duplicado são anexados ao produto em questão e o triplicado será carimbado, assinado e datado pela pessoa responsável pela distribuição de cada fornecedor e arquivado na farmácia para posterior regularização. A regularização passa pela emissão por parte do fornecedor de uma nota de crédito ou pela devolução do produto à farmácia

quando este não é aceite ou pela regularização em produto. Na FP existe um sistema bem delineado para evitar erros relativos às regularizações. Todas as devoluções regularizadas passam pelo seguinte processo: O farmacêutico responsável pela regularização deve discriminar, no próprio documento, o modo de regularização usado. Este terá também de ser assinado e datado, no momento da sua regularização.

3.5. Armazenamento de medicamentos e produtos de saúde

Após a receção das encomendas, etiquetagem dos produtos de venda livre e da devolução de produtos, o seguinte passo é o armazenamento, sendo que os primeiros produtos a serem armazenados, muitas vezes, antes mesmo da receção completa são os produtos de frio. Quando não é possível dar entrada desses produtos de forma imediata, estes são colocados no frigorífico, numa zona reservada aos produtos que ainda não foram rececionados.

O armazenamento é feito de acordo com a organização da farmácia, pormenorizadamente descrita na alínea correspondente ao Espaço interior, segundo o princípio First-Expire, First-Out (FEFO), de maneira a que os produtos com prazo de validade inferior sejam dispensados primeiro. No caso de medicamentos ou produtos de saúde que não possuam validade ou que possuam validades iguais a regra aplicada é a First-In, First-Out (FIFO), dando assim prioridade de venda aos produtos que estão há mais tempo na farmácia.

Outros parâmetros importantes no que toca ao armazenamento de medicamentos são as condições de conservação (temperatura e humidade) a que estes estão sujeitos. Para isso a FP conta com ajuda de 4 termohigrómetros, dispostos estrategicamente, nomeadamente no frigorífico, no armazém, no corredor onde estão os produtos reservados e no laboratório, para regular estas condições periodicamente tal como está preconizado no BPF. [2]

No final de cada mês reúne-se a informação contida nos termohigrómetros e arquiva-se no respetivo dossiê. Os medicamentos não termolábeis devem ser mantidos abaixo dos 25°C, e os termolábeis (produtos de frio) entre os 2°C e os 8°C. No que diz respeito à humidade devem ser mantida abaixo dos 75% e acima dos 70%. Qualquer resultado fora destes intervalos terá de ser devidamente justificado.

3.6. Controlo de prazos de validade

O controlo de prazos de validade é muito importante para garantir que todos os produtos preenchem os requisitos de segurança e qualidade no momento da dispensa. Este controlo é feito mensalmente através da impressão da listagem de todos os medicamentos e/ou produtos de saúde cujo prazo de validade termina nos três meses seguintes. Essa listagem é conferida pelo Farmacêutico, através da contagem física de cada produto e da verificação do prazo de validade do mesmo. Caso este prazo de validade não se encontre conforme o que está na embalagem do medicamento procede-se à alteração do prazo de validade no *Sifarma*®2000. Os restantes produtos são retirados das suas prateleiras de origem e colocados nas prateleiras das validades, ou devolvidos ao fornecedor, quando as condições da marca assim o permitem.

4. Dispensa de medicamentos e outros produtos de saúde

Todas as tarefas realizadas pelo farmacêutico comunitário envolvem uma enorme responsabilidade e exigem a maior atenção e profissionalismo possível. A da dispensa de medicamentos será provavelmente aquela que mais impacto terá na terapêutica e conseqüentemente na vida de cada utente e é por isso que acredito que o papel do farmacêutico, no que concerne a esta tarefa, seja fundamental. Cada atendimento é único e é essa diferença que torna o atendimento e dispensa de medicamentos tão diversificados e ao mesmo tempo tão desafiantes. Por este mesmo motivo foi nesta área que dediquei mais tempo do meu estágio.

Nesta variante valeram-me, não só, todos os conhecimentos relativos à componente científica que o curso de Ciências Farmacêuticas na Universidade da Beira Interior tem para oferecer, como também, todas as componentes sociais inerentes ao mesmo, tais como, as ferramentas de comunicação. Durante este estágio aprendi que o tempo de atendimento deve ser gerido de forma inteligente, de maneira a que o utente seja completamente esclarecido e que, sem pressas, seja possível facultar informações imprescindíveis tais como, quais os fármacos que lhe foram prescritos e com que indicações terapêuticas, a sua posologia, modo de administração e de conservação, precauções inerentes à sua utilização, alertas sobre o uso racional do medicamento e a importância de cumprir o tratamento até ao fim. Esta informação só terá utilidade para o beneficiário se for transmitida de forma adequada ao seu nível sociocultural e literacia.

Para facilitar a transmissão de toda esta informação, na FP a dispensa de cada medicamento ou produto de saúde é sempre acompanhada de informação escrita, através da utilização de etiquetas de posologia, que contêm as informações relevantes como o nome do utente, nome do medicamento, dosagem, posologia e advertências pertinentes para a correta toma do medicamento.

A dispensa pode ser feita em três tipos de situação:

- Auto-medicação – por solicitação do utente
- Prescrição – por indicação do médico
- Aconselhamento farmacêutico

Todas as situações exigem precaução por parte do farmacêutico, especialmente a auto-medicação.

4.1. Dispensa de MSRM

Os MSRM, tal como o nome indica, são medicamentos que apenas podem ser dispensados quando o utente se faz acompanhar da respetiva prescrição médica. Podem ser classificados, segundo o artigo 113º do Decreto-Lei nº176/2006, de 30 de agosto, em:

- Medicamentos de receita médica renovável (medicação crónica);
- Medicamentos de receita médica especial (psicotrópicos e estupefacientes);
- Medicamentos de receita médica reservada a certos meios especializados (meio hospitalar). [9]

No Decreto-Lei supracitado, no artigo 114º, é possível identificar quais as razões que implicam a apresentação de receita na dispensa destes medicamentos:

- Por constituírem um risco para a saúde do doente, sendo estes usados para o fim a que se destinam, mas sem vigilância médica;
- Por constituírem um risco para a saúde do doente, por serem usados para outros fins, em quantidades consideráveis e com frequência;
- Por conterem substâncias cuja atividade e reações adversas sejam necessárias investigar;
- Por se destinarem à administração parentérica. [9]

4.1.1. Prescrição Médica

A prescrição pode ser classificada em diferentes tipos, sendo que, atualmente, a mais utilizada e com a qual mais tive contacto é a Prescrição Eletrónica de Medicamentos (PEM). Este tipo de prescrição divide-se em duas modalidades: PEM materializada (impressa) e desmaterializada (não impressa). No entanto, o despacho nº2935-B/2016, de 25 de fevereiro estipula como obrigatório a utilização de uma prescrição eletrónica desmaterializada, uma vez que permite evitar erros na dispensa através da desmaterialização do circuito da prescrição. [10][11] Apesar da obrigatoriedade da utilização das PEM, existem algumas exceções à regra. É possível realizar receitas manuais, de acordo com as seguintes exceções: falência informática; inadaptação do prescritor ao sistema, desde que esta seja validada anualmente pela Ordem dos Médicos; assistência ao domicílio e ainda sendo possível a prescrição manual de 40 receitas/mês.

Qualquer uma destas exceções tem de estar devidamente assinalada na receita manual, para que esta seja válida.

Todas as receitas apresentam os seguintes campos de prescrição obrigatória:

- Numeração – número único atribuído pela Base de Dados Nacional de Prescrições (BDNP);
- Local de prescrição – atribuído pelas Administrações Regionais de Saúde (ARS) e pelos Serviços Partilhados do Ministério da saúde, E. P. E (SPMS)
- Identificação do médico prescriptor – nome, especialidade (se aplicável), número da cédula profissional, contacto telefónico e endereço eletrónico.
- Identificação do utente – nome, número nacional do utente, regime especial de comparticipação (se aplicável), número de beneficiário da entidade financeira responsável
- Identificação do medicamento
 - Substância ativa em Denominação Comum Internacional (DCI), salvo algumas exceções. O prescriptor poderá optar pelo nome comercial do medicamento ou titular da Autorização de Introdução do Mercado (AIM) em medicamentos de marca sem similares, medicamentos que não disponham de genéricos comparticipados, medicamentos que, por razões de propriedade industrial, apenas podem ser prescritos para certas indicações terapêuticas ou mediante justificação técnica do prescriptor nas seguintes circunstâncias: Medicamento com margem terapêutica estreita, que conste da lista definida pelo INFARMED, presente no anexo da Deliberação n.º 70/CD/2012; [12] (Anexo1) suspeita fundada e previamente reportada ao INFARMED de alguma intolerância ou reação adversa a um medicamento (RAM) com a mesma substância ativa, mas identificado por outra denominação comercial ou se é um medicamento destinado a assegurar a continuidade de um tratamento com duração estimada superior a 28 dias. Esta última é a única alínea em que o utente poderá optar por outro medicamento, desde que, com a mesma DCI, forma farmacêutica, dosagem, tamanho de embalagem similar ao prescrito e preço inferior;[11]
 - Forma farmacêutica;
 - Dosagem;

- Posologia – dose do medicamento, frequência de administração e duração do tratamento;
- Tamanho da embalagem.
- Identificação da entidade financeira responsável – entidade responsável pelo pagamento ou participação dos medicamentos da receita;
- Tipo/linha de prescrição;
- Assinatura do médico prescritor – apenas nas receitas eletrônicas materializadas e nas manuais;
- Data e hora da prescrição e número de embalagens.
 - Receitas eletrônicas desmaterializadas: 2 embalagens, com validade até 60 dias, para tratamentos de curta duração ou 6 embalagens, com validade de 6 meses para tratamentos de longa duração. No caso de medicamentos prescritos em dose unitária, podem ser prescritas 4 embalagens para tratamentos curtos e 12 para tratamentos longos. Excepcionalmente é possível efetuar prescrições com número de embalagens superiores aos limites previstos, com validade até 12 meses, mediante fundamentação: doente crônico estabilizado, ausência prolongado do país, posologia ou outra.
 - Receitas eletrônicas materializadas: têm validade de 30 dias e poderá ter até 3 vias, quando se trata de um tratamento de longa duração. Podem ser prescritos 4 medicamentos diferentes, num total de 4 embalagens por receita (2 embalagens por medicamento). No caso de medicamentos unitários, podem ser prescritos 4 embalagens por receita ou 12 embalagens, no total das 3 vias, caso o tratamento seja prolongado.
 - Receitas manuais: têm validade de 30 dias. Podem ser prescritas 4 embalagens por receita (2 por medicamento). No caso de embalagens em dose unitária, poderão ser prescritas 4 embalagens/medicamento.

4.1.2. Prescrição e dispensa de Medicamentos Estupefacientes e Psicotrópicos (MEPs)

A prescrição de medicamentos que contêm substâncias ativas classificados como psicotrópicos e estupefacientes contidos nas tabelas I e II do Decreto-Lei nº15/93, de 22 de janeiro seguem as mesmas regras que a dos restantes medicamentos. [13] No caso da prescrição eletrónica materializada e da prescrição manual, estes medicamentos têm de ser prescritos separadamente, ou seja, a receita médica não pode conter outros medicamentos. Na prescrição eletrónica desmaterializada deve estar identificada que é do tipo LE e a materializada deve identificar que é do tipo RE. Também as preparações e substâncias à base da planta de canábis para fins medicinais seguem estas mesmas indicações. A prescrição é feita pela indicação do nome comercial deste produto e está limitada às indicações terapêuticas listadas na Deliberação nº 11/CD/2019 de 18 de julho, devidamente indicadas no ato da prescrição. [11] [14]

Durante a dispensa destes medicamentos, o *Sifarma*®2000 solicita o preenchimento de um formulário contendo os dados pessoais do utente (nome completo, data de nascimento, morada, número de cartão de cidadão). [11] Se a medicação não se destinar à pessoa que faz o levantamento da prescrição, é obrigatório o preenchimento dos dados do utente e da pessoa que veio levantar, no seu lugar. O medicamento só será aviado se este for maior de idade.

Apenas nos casos de iminente necessidade, podem os farmacêuticos, sob a sua responsabilidade e para uso imediato, fornecer sem receita médica estas substâncias, desde que, o total do fármaco não exceda a dose máxima para ser tomada de uma só vez, segundo aquilo que consta no Artigo 17º do Decreto-Lei n.º 15/93, de 22 de janeiro. [13]

Após a dispensa é impresso um talão com os medicamentos dispensados, número de prescrição e dados do requerente e do utente. Este talão deve ser anexado à cópia da receita, quando esta é do tipo, materializada ou manual, ou arquivado, no caso das receitas desmaterializadas. O talão e a cópia da receita terão de ficar guardadas durante 3 anos, organizados por ordem de dispensa.

O Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento, em parceria com a Direcção-Geral da Saúde, procede ao controlo do receituário aviado, ficando sujeitos ao segredo profissional todos aqueles que acedam a estas informações. A FP envia mensalmente (até ao dia 8) a digitalização das receitas manuais ao INFARMED, I. P, juntamente com a listagem com todos os talões de dispensa de psicotrópicos emitida pelo *Sifarma*®2000.

Na farmácia ficam arquivados, a cópia dos e-mails enviados, os talões emitidos e a listagem de saída de estupefacientes e psicotrópicos. Anualmente (até dia 31 de janeiro do ano seguinte), é necessário enviar um Mapa de Balanço destas substâncias e das benzodiazepinas. Para além do controlo a que estão sujeitos, durante a prescrição e dispensa, estas substâncias, também são sujeitas a validação do número de embalagens recebidas nas encomendas desse mês para os fornecedores, comparando com as requisições enviadas. [13]

Durante o período do meu estágio tive oportunidade de dispensar vários medicamentos contendo estas substâncias e fui previamente instruída sobre todas as regras, não só as de dispensa, como também as de armazenamento.

No caso das câmaras expansoras, as únicas que são comparticipadas pelo estado constam numa listagem fornecida pelo INFARMED e apenas pode ser comparticipada uma, por utente, por ano, contado após a data da dispensa. [11]

4.1.3. Organismos e Comparticipação de MSRM

Os regimes de comparticipação dos MSRM dividem-se em dois grupos: regime geral e regime especial. No regime geral o estado paga uma percentagem do PVP dos medicamentos, tendo em conta os escalões onde estes se inserem, de acordo com a classificação farmacoterapêutica dos mesmos. Estes escalões têm diferentes comparticipações. Escalão A – 90%, Escalão B – 69%, Escalão C-37%, Escalão D – 15%, tal como o indicado no artigo 5º do Decreto-Lei nº48-A/2010, de 13 maio, alterado pelo Decreto-Lei nº106-A/2010 de 1 Outubro. [16] [17] No regime especial o estado acrescenta 5% para o Escalão A e 15% aos escalões B, C e D. É ainda possível que o estado participe na totalidade, para o conjunto de escalões, quando se tratam de pensionistas cujo rendimento total anual não exceda 14 vezes a retribuição mínima mensal, em vigor no ano civil transato, para medicamentos cujos PVP correspondam a um dos cinco preços mais baratos do grupo homogêneo em que se inserem. [16]

Relativamente aos utentes que não têm direito a comparticipação especial, estes podem usufruir da comparticipação por parte de um subsistema de saúde, [11] como é o caso do SAMS, CTT, Sâvida. Para o utente poder usufruir deste desconto é necessário fazer-se acompanhar do cartão de beneficiário ou do número de beneficiário para se proceder à comparticipação.

4.1.4. Conferência e fecho de receituário e faturação

Na FP, a conferência de receitas manuais ou materializadas é feita no final do mês. Estas receitas são guardadas numa gaveta, após a dispensa, e posteriormente verificadas de modo a detetar possíveis erros não identificados durante a dispensa. Esta é uma tarefa que requiere imensa atenção, uma vez que são muitos os parâmetros obrigatórios: nome do utente, vinheta do prescriptor e do local de prescrição, data, assinatura do médico prescriptor e do farmacêutico, assinatura do utente, organismo de participação, medicamentos dispensados e respetivas quantidades, existência de rasuras ou cores diferentes e caligrafias diferentes e ainda a alínea da exceção assinalada.

Após a conferências, as receitas são agrupadas por organismo de participação, separadas por lote (até 30 receitas) e organizadas pelo número da receita. Efetua-se o fecho dos lotes, imprime-se os verbetes e estes são assinados e carimbados pelo farmacêutico responsável por esta tarefa. São também emitidos a Relação de Resumo de Lotes, a Fatura Mensal e respetiva Guia de Fatura, enviada ao Serviço Nacional de Saúde SNS.

No mês seguinte, até dia 8, é necessário enviar as prescrições referentes ao mês anterior para os organismos de participação, a fim de se proceder à faturação. As receitas, cuja participação é realizada pelo SNS, são enviadas ao Centro de Controlo e Monitorização do SNS e as receitas, participadas pelos restantes organismos são enviadas para a ANF, que se responsabiliza pelas mesmas e as faz chegar aos respetivos organismos. No caso do SNS é ainda necessária a Guia dos CTT.

4.2. Dispensa de MNSRM

Os MNSRM são todos aqueles medicamentos que não necessitam de prescrição médica para serem dispensados. A utilização destes medicamentos, por parte do utente, de forma responsável e com acompanhamento opcional do farmacêutico, designa-se por automedicação. Esta prática de automedicação deve ser limitada a situações bem definidas no anexo do Despacho 17 690/2007 de 10 de agosto. [18] (Anexo2)

Um aconselhamento farmacêutico individualizado é muito importante para o sucesso da automedicação, bem como para evitar potenciais riscos como a duplicação da dose, a interação com outros medicamentos e ainda o uso inadequado do medicamento para determinada patologia. Daí a importância da realização de algumas perguntas ao utente

de forma a entender quais os sintomas sentidos, a duração e possível reincidência dos mesmos, quais as terapêuticas concomitantes, se já realizou, ou não, algum tratamento e se este solucionou/aliviou os sintomas, entre outras. É com base nestas premissas que se justifica que a exposição dos MNSRM esteja limitada à zona atrás do balcão.

Estes medicamentos também podem ser vendidos ao público fora da farmácia, sempre que os locais de venda cumpram os requisitos legais descritos no Decreto-Lei nº 134//2005 de 16 de agosto e devem ser dispensados sob a supervisão de um profissional competente (farmacêutico ou técnico de farmácia). [19] Existem, no entanto, MNSRM de dispensa exclusiva em farmácia (MNSRM – EF), que são medicamentos sujeitos a receita médica, que podem, pontualmente, ser dispensados em farmácia, sem a obrigatoriedade de apresentação de receita, se a sua DCI constar no anexo I do regulamento dos MNSRM – EF e se cumprirem com as condições previstas no anexo II do referido regulamento, que constitui a Deliberação 25/CD/2015, de 8 de janeiro. [20]

Durante o meu estágio tive a oportunidade de dispensar MNSRM e foi, sem dúvida, a tarefa que mais dúvidas me suscitou e aquela à qual mais prestei atenção. Tive a preciosa ajuda, não só, da minha orientadora de estágio, como também de todos os profissionais que trabalham na Farmácia da Praça, que me disponibilizaram imensa informação sobre os MNRM, assim como os algoritmos da sua dispensa, que tanta utilidade tiveram na hora do atendimento. Foi durante este tempo também, que aprendi a importância de passar, de forma clara e confiante, as informações certas ao utente, não só para promover o uso racional dos MNRM, como também para lhes transmitir confiança e profissionalismo.

4.3. Aconselhamento e dispensa de outros produtos de saúde

Na FP é possível encontrar uma grande variedade de produtos de saúde que não entram na categoria de medicamentos, mas que, no entanto, requerem atenção por parte do Farmacêutico, porque apesar de serem produtos de venda livre, podem ser aconselhados em complementaridade com medicamentos, a fim de melhorar os resultados obtidos, se a situação o justificar. Por exemplo, no caso da terapêutica com isotretinoína oral, para além de ser aconselhado utilizar contraceção oral concomitantemente, é também essencial a utilização de um protetor solar como medida de prevenção de possíveis lesões solares, acompanhada de uma hidratação da pele e mucosas.

Infelizmente, devido à pandemia provocada pela COVID-19, não tive oportunidade de participar de formações, mas tive a oportunidade de consultar inúmeros panfletos e informações sobre determinados produtos, facultados pela FP. Estes documentos abrangeram: produtos de dermofarmácia, cosmética e higiene, dispositivos médicos, produtos de uso veterinário, produtos dietéticos e ainda alimentos para fins medicinais específicos, como o caso dos alimentos especiais para doentes oncológicos, que resultam ser produtos hiperproteicos, com elevado teor de fibra e baixo teor em hidratos de carbono.

Os géneros alimentícios destinados a uma alimentação especial requerem medidas relativas à qualidade e segurança, que é da responsabilidade do Gabinete de Planeamento e Políticas. A comparticipação destes produtos, segundo o Despacho nº822/2005 de 15 dezembro, [21] é de 100%, desde que estes sejam prescritos pelo Instituto de Genética Médica Dr. Jacinto Magalhães ou nos centros de tratamento dos seguintes hospitais:

- a) Hospital de São João;
- b) Hospital Central e Especializado de Crianças Maria Pia;
- c) Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia;
- d) Hospital de Santa Maria;
- e) Hospital de D. Estefânia;
- f) Hospital Pediátrico do Centro Hospitalar de Coimbra;
- g) Hospital Central do Funchal;
- h) Hospital do Divino Espírito Santo, de Ponta Delgada;
- i) Hospital de Santo Espírito, de Angra do Heroísmo.

Uma categoria muito dispensada na FP é a dos produtos dietéticos infantis. Dada a procura deste tipo de produtos é imperativo que o aconselhamento farmacêutico se foque num dos pontos fundamentais da alimentação dos recém-nascidos, o aleitamento materno. O leite materno, em exclusivo, é o alimento ideal para suprir as necessidades nutricionais do lactente nos primeiros 6 meses de vida. Nem sempre esta é a primeira opção da mãe e é por isso necessário lembrá-la de todos os benefícios que esta opção possibilita ao bebé e à própria mãe. Algumas dos benefícios do aleitamento materno vêm descritos a seguir:

- Permite o desenvolvimento saudável do bebé, uma vez que alimenta, combate infeções e previne doenças. Isto deve-se ao facto de ser constituído por células estaminais, glóbulos brancos e anticorpos, que passam da mãe para o filho;
- Permite à mãe uma recuperação muito mais rápida do pós-parto e uma mais rápida regressão do útero;
- O leite está sempre pronto a ser utilizado, sem necessitar de aquecer ou arrefecer, o que torna o processo de alimentação mais rápido e prático;
- O leite pode ser armazenado no frigorífico por 24h e no congelador por 6 meses;
- O vínculo criado entre a mãe e o bebé é muito maior desta forma.

É, no entanto, uma opção que depende inteiramente dos pais e nesse caso ou no caso de o bebé sofrer de alguma patologia que não lhe permita a ingestão do leite materno, existem produtos que poderão ser indicados, nestas situações. Os leites para lactentes podem ser uma boa opção, sendo que se houver a suspeita de alguma alergia por parte do bebé, estes devem ser de carácter hipoalergénico, da gama HA. Existem ainda gamas adaptadas a outro tipo de situações, tais como a gama AR, Anti-Regurgitação, constituídas por leites um pouco mais espessos, que diminuem a probabilidade de refluxo; a gama AO ou *Comfort*, Anti-obstipante ou para casos de intolerância/alergia à lactose.

5. Serviços e outros cuidados de saúde prestados na farmácia

A FP trabalha no sentido de poder proporcionar uma variedade de serviços de qualidade, de maneira promover a saúde e o bem-estar da população. Segue-se a descrição dos serviços prestados pela farmácia.

5.1. Determinação dos parâmetros bioquímicos e fisiológicos

Dentro dos serviços farmacêuticos prestados, estes são, os mais requisitados pelos utentes. Houve um período de tempo, em que a farmácia não conseguiu realizar estes serviços por precaução, uma vez que as normas de segurança não estavam bem definidas dado ao surto provocado pelo SARS-CoV-2. Os parâmetros sujeitos a medição são: a Tensão Arterial, o Colesterol Total, a Glicémia e Triglicéridos (tabela 2).

Tive oportunidade de prestar estes serviços, com a supervisão e ajuda do Staff Técnico da Farmácia. Para isso precisei de ter bem presente os valores de referência de cada parâmetro:

Em cada medição é necessário que o Farmacêutico tenha em atenção o estilo de vida da pessoa, as patologias que tem, os seus antecedentes e a medicação que toma e como a toma, de modo a adequar cada medição ao utente e também, desta forma, estabelecer contacto com a pessoa, para a deixar à vontade.

Também é importante registar os resultados, desta forma o utente pode guardar um registo e mostrar ao médico, se for necessário, ou guardar consigo. Caso os valores não se encontrem dentro do expetável, para cada situação em particular, faz parte do trabalho do farmacêutico informar o utente disso e sugerir medidas não farmacológicas para a estabilização dos parâmetros, ou então encaminhar para o médico, nas situações mais graves.

Tabela 2- Valores de referência dos Parâmetros Bioquímicos e da Tensão Arterial (Adaptado: Direção Geral da Saúde)[22][23][24]

Parâmetro	Valores de Referência	Observações
Tensão Arterial	<140/90 mmHg [22]	Este valor já corresponde ao valor normal alto, que é o que precede aos graus I, II e III de Hipertensão Arterial. [22]
Glicémia	<126mg/dl [23]	Em jejum [23]
	<200mg/dl [23]	Ocasional [23]
Colesterol Total	<190mg/dl [24]	Para pessoas cujo risco cardiovascular é baixo (SCORE <1%) a moderado (SCORE ≥ 1% < 5%) [24]
	c-LDL <115mg/dl [24]	
Triglicéridos	<150mg/dl [24]	

5.2. Administração de Injetáveis

A administração de injetáveis e vacinas é mais um dos serviços apresentados pela FP e este, segundo a Deliberação nº145/CD/2010, [25] faz parte das responsabilidades da diretora técnica e apenas pode ser executado por Farmacêuticos com formação reconhecida pela OF ou por enfermeiros contratados para esse efeito. A farmácia deve possuir instalações adequadas à administração de injetáveis, tal como consta na Deliberação nº 139/CD/2010: um gabinete personalizado com marquesa ou cadeira reclinável, armário preparado para armazenar o material a utilizar no processo de vacinação, superfície que permita a manipulação da preparação, contentores de resíduos adequados à recolha de material contaminado e/ou cortante, material desinfetante de superfície (álcool a 70%) e de mãos, compressas, luvas e pensos rápidos. [26]

Tive oportunidade de observar várias administrações de injetáveis, o que contribuiu para o enriquecimento da minha experiência.

5.3. Kit Troca de Seringas

O programa Troca de Seringas consiste, segundo o Artigo 2º da Portaria n.º 301-A/2016, na distribuição gratuita de um kit composto por duas seringas, dois toalhetes desinfetantes, um preservativo, duas ampolas de água bidestilada, dois filtros, dois recipientes para preparação da substância, e duas carteiras de ácido cítrico e um folheto informativo, na troca de seringas usadas por utilizadores de drogas injetáveis. [27]

5.4. Teste NADAL®

Devido à propagação da doença COVID-19 em massa, à falência de muitos serviços Hospitalares e à procura de respostas por parte da população, a FP decidiu incluir, nos serviços prestados, a possibilidade de realização do teste NADAL®, que é um imunoenensaio cromatográfico que deteta a presença de imunoglobulinas (IgG e IgM) anti-SARS-CoV-2, em amostras de sangue total, soro ou plasma humano. Este teste destina-se a ser usado como auxílio na caracterização da imunidade da população à infeção por SARS-CoV-2.

5.4.1. Princípios do Teste

Durante o teste, a amostra reage com os antígenos SARS-CoV-2, que por sua vez apresentam-se conjugados com partículas coloridas. A mistura migra ao longo da membrana cromatográfica por ação capilar e agrega-se à IgM e IgG anti-humanos, na linha de teste da membrana possibilitando assim a visualização de uma linha colorida nas regiões IgM e/ou IgG da cassete.

5.4.2. Protocolo

Antes de qualquer protocolo é muito importante que o Farmacêutico prepare devidamente o local onde irá realizar o teste (no caso da FP faz-se no gabinete) através da desinfecção do balcão, bem como da cadeira/marquês onde se vai sentar o utente. Também é muito importante que o profissional realize a prova em segurança, uma vez que se trata de um teste que exige alguma proximidade entre utente e farmacêutico e que se trata de um vírus altamente contagioso. Na FP essas medidas são tidas em conta e de cada vez que algum elemento do staff realiza um teste deve lavar e desinfetar as mãos, utilizar luvas descartáveis e mudar de máscara, utilizando sempre um dispositivo médico de proteção individual (FFP2). Só depois de assegurar todas as medidas de proteção do utente e do profissional é que se poderá dar início ao teste.

1. Desinfetar o dedo com álcool e deixar que este evapore, para não diluir a amostra;
2. Realizar uma picada com uma lanceta estéril;

3. Recolher o sangue total (aproximadamente 10µl) com um capilar;
4. Adicionar a amostra no poço (S) do teste cassete (figura 1);
5. Adicionar 2 gotas de tampão fosfato (aproximadamente 80µl) no poço (B), evitando a formação de bolhas de ar;
6. Iniciar o temporizador de 10 minutos;
7. Após os 10 minutos, interpretar os resultados

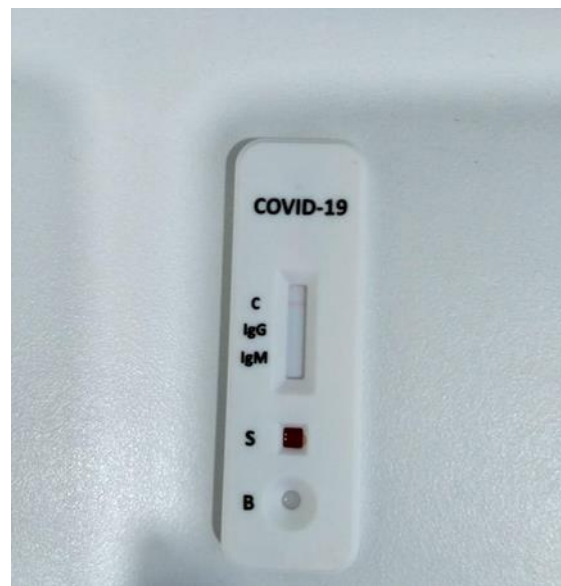


Figura 1 -Teste NADAL®

5.4.3. Resultados

Na tabela 3 encontram-se descritos os possíveis resultados para o teste, sendo que o sinal '+' significa que se desenvolveu uma linha colorida na região em questão, o sinal '-' que não se desenvolveu e a sigla 'NA' que o resultado obtido não se aplica à situação.

Tabela 3- Possíveis resultados do Teste NADAL® (Adaptado: nal von minden GmbH, 2020)[28]

Possíveis Resultados	Controlo	IgM	IgG
Opção A	+	-	-
Opção B	+	+	-
Opção C	+	-	+
Opção D	+	+	+
Opção E	-	NA	NA

5.4.4. Interpretações e Significado Clínico

A interpretação destes resultados tem por base o gráfico seguinte (figura 2), relativo ao desenvolvimento das imunoglobulinas durante a infeção por SARS-CoV-2:

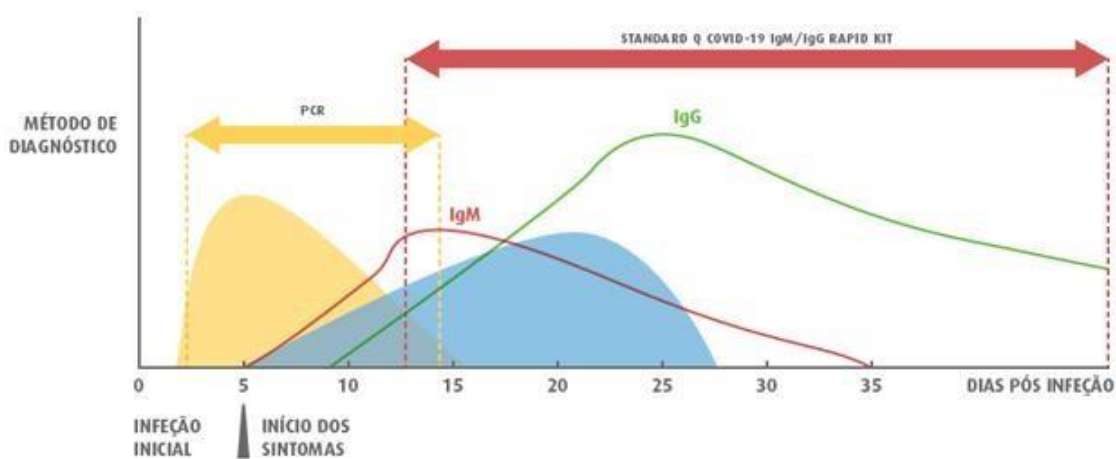


Figura 2– Desenvolvimento das imunoglobulinas durante infeção por SARS-CoV-2 (Fonte: Centro de medicina laboratorial Germano de Sousa) [29]

Opção A – Negativo

A amostra não contém anticorpos IgM e IgG detetáveis, porque não apresenta nenhuma linha colorida em nenhuma das regiões. O que indica que, à partida, a pessoa nunca esteve em contacto com o vírus, ou que essa interação não trouxe imunidade e esta poderá ser reinfectada ou que a pessoa em questão estará numa fase inicial da infeção onde os anticorpos ainda não são detetáveis pelo teste.

Opção B – Positivo para IgM

Desenvolveu-se uma linha colorida na região IgM, o que indica uma possível infeção recente, caracterizada pela presença de IgM detetáveis 3-7 dias após o início dos primeiros sintomas. Nestes casos é imperativo que o profissional salvaguarde a segurança de todos, uma vez que o utente em questão pode estar infetado com SARS-CoV-2. Este deve ser imediatamente encaminhado para casa, sem manter contacto com mais ninguém e terá de ligar à Saúde 24.

Opção C – Positivo para IgG

Desenvolveu-se uma linha colorida na região IgG, o que indica uma possível infeção não tão recente, caracterizada pelos níveis elevados de IgG ou pós-infeção, quando já nem é possível identificar o patógeno por PCR.

Opção D – Positivo para IgM e IgG

Desenvolveram-se duas linhas coloridas, uma na região IgM e uma na região IgG, indicativo de uma possível infeção mais avançada. À partida, a pessoa pode ainda estar infetada, por isso o profissional de saúde deve seguir o mesmo protocolo da opção B e encaminhar a pessoa para a realização de uma prova PCR, para averiguar se a pessoa em questão ainda continua infetada, ou não.

Opção E - Inválido

Independentemente do resultado obtido nas regiões das imunoglobulinas, este teste é inválido, porque a linha correspondente ao controlo não se desenvolveu. Pode resultar de uma utilização de um volume de amostra pequeno, erros no procedimento, incorreto armazenamento (temperatura deve estar entre os 2°C e os 30°C) ou prazo de validade expirado.

6. Preparação de Medicamentos

A FP, por motivos de rentabilidade, não realiza medicamentos manipulados. Recorre à Farmácia Barreiros (FB), no Porto para a realização dos mesmos. O pedido é feito via telefónica e as receitas são enviadas através do mail.

Nem todas as substâncias podem ser manipuladas e é por isso que o Conselho Diretivo do INFARMED I.P. delibera através da Deliberação nº1985/2015 de 2 de novembro, quais as substâncias que não podem constituir um medicamento manipulado.[30]

Apesar de não ter tido oportunidade de realizar manipulados, pude analisar as fichas preenchidas pela FB e aproveitei para rever o cálculo do preço dos manipulados, bem como a legislação que determina o fator referente aos honorários da farmácia, que é atualizado anualmente.

A comparticipação de medicamentos manipulados está limitada a uma lista publicada em anexo ao Despacho nº 18694/2010, de 16 de dezembro. [31] A esta lista acrescentam-se os medicamentos que cumpram cumulativamente as seguintes exigências:

- Inexistência no mercado de especialidade farmacêutica com igual substância ativa, na forma farmacêutica pretendida;
- Existência de lacuna terapêutica a nível dos medicamentos preparados industrialmente;
- Necessidade de adaptação de dosagens ou formas farmacêuticas às carências terapêuticas de populações específicas, como é o caso da geriatria e da pediatria.

Referências

- [1] Decreto-Lei n.º 307/2007 de 31 de agosto. Diário da República. 2007; 1ª série (No 168).
- [2] Ordem dos Farmacêuticos. Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária. 2009; (3ª Edição).
- [3] Decreto-Lei n.º 58/2016 de 29 de agosto. Diário da República. 2016; 1ª série (No 165).
- [4] Portaria n.º 273/2013 de 20 de agosto. Diário da República. 2013; 1ª série (No 159)
- [5] Decreto-Lei n.º 24-A/2020 de 29 de maio. Diário da República. 2020; 1ª série (No 105).
- [6] Deliberação n.º 1500/2004, de 7 de dezembro. Diário da República. 2004; 2ª série (No 303).
- [7] Deliberação n.º 481/2018, de 17 de abril. Diário da República. 2018; 2ª série (No 75)
- [8] Decreto-Lei n.º 112/2011 de 29 de novembro. Diário da República. 2011; 1ª série (No 229).
- [9] Decreto-Lei n.º 176/2006 de 30 de agosto. Diário da República. 2006; 1ª série (No 167).
- [10] Despacho n.º 2935-B/2016 de 25 de fevereiro. Diário da República. 2016; 2ª série (No 39).
- [11] INFARMED I.P. Normas relativas à prescrição de medicamentos e produtos de saúde. 2019. Versão 6.0

- [12] INFARMED I.P. Deliberação n.º 70/CD/2012 de 24 de maio. 2012.
- [13] Decreto-Lei n.º 15/93 de 22 de janeiro. Diário da República.1993; 1a série (No 18)
- [14] Deliberação n.º 11/CD/2019 de 18 julho. INFARMED IP.2019
- [15] INFARMED IP. Normas relativas à dispensa de medicamentos e produtos de saúde. 2019. Versão 6.0
- [16] Decreto-Lei n.º 48-A/2010 de 13 maio. Diário da República.2010; 1a série (No 93)
- [17] Decreto-Lei n.º 106/2010 de 1 outubro. Diário da República. 2010; 1a série (No 192)
- [18] Despacho n.º 17 690/2007 de 10 de agosto. Diário da República.2007; 2a série (No 154)
- [19] Decreto-Lei n.º 134//2005 de 16 de agosto. Diário da República. 2005; 1a série (No 156)
- [20] INFARMED IP. Deliberação 25/CD/2015 de 8 de janeiro. 2015.
- [21] Despacho nº822/2005, de 15 dezembro. Diário da República. 2005; 2a série (No 239)
- [22] Direção-Geral da Saúde. Norma n.º 020/2011 de 19 de março. 2013
- [23] Direção-Geral da Saúde. Circular Normativa n.º 09/DGCG de 4 de julho. 2002.
- [24] Direção-Geral da Saúde. Norma n.º 019/2011 de 11 de maio. 2017.
- [25] INFARMED I.P. Deliberação n.º 145/CD/2010, de 4 de novembro. 2010.
- [26] INFARMED I.P. Deliberação n.º 139/CD/2010, de 21 de outubro. 2010.

- [27] Portaria n.º 301-A/2016 de 30 de novembro. Diário da República. 2016; 1ª série (No 230)
- [28] Nal von minden GmbH. Instruções de utilização do NADAL COVID-19 IgG/IgM Test (test cassette). Versão 2.2. 26-29. 2020, de 30 de março.2020
- [29] Germano de Sousa. Centro de medicina Laboratorial. COVID-19. 2020 <https://www.germanodesousa.com/areas-clinicas/nova-variante-coronavirus-2019-ncov/>
- [30] INFARMED I.P. Deliberação n.º 1985/2015 de 2 de novembro. 2015.
- [31] Despacho nº 18694/2010, de 16 de dezembro. Diário da República. 2010.

Anexos

Anexo 1



Anexo

(a que se refere o n.º 1 da Deliberação n.º 70/CD/2012)

Lista de substâncias ativas com margem ou índice terapêutico estreito

- 1 - Ciclosporina
- 2 - Levotiroxina sódica
- 3 - Tacrolímus

Anexo 2

ANEXO

Lista de situações passíveis de automedicação

Sistema	Situações passíveis de automedicação (termos técnicos)
Digestivo	<ol style="list-style-type: none">a) Diarreia.b) Hemorróidas (diagnóstico confirmado).c) Pirose, enfartamento, flatulência.d) Obstipação.e) Vômitos, enjoo do movimento.f) Higiene oral e da orofaringe.g) Endoparasitoses intestinais.h) Estomatites (excluindo graves) e gengivites.i) Odontalgias.j) Profilaxia da cárie dentária.k) Candidíase oral recorrente com diagnóstico médico prévio.l) Modificação dos termos de higiene oral por desinfecção oral.m) Estomatite aftosa.
Respiratório	<ol style="list-style-type: none">a) Sintomatologia associada a estados gripais e constipações.b) Odinofagia, faringite (excluindo amigdalite).c) Rinorreia e congestão nasal.d) Tosse e rouquidão.e) Tratamento sintomático da rinite alérgica perene ou sazonal com diagnóstico médico prévio.f) Adjuvante mucolítico do tratamento antibacteriano das infeções respiratórias em presença de hipersecreção brônquicag) Prevenção e tratamento da rinite alérgica perene ou sazonal com diagnóstico médico prévio (corticóide em inalador nasal) .
Cutâneo	<ol style="list-style-type: none">a) Queimaduras de 1.º grau, incluindo solares.b) Verrugas.c) Acne ligeiro a moderado.d) Desinfecção e higiene da pele e mucosas.

Sistema	Situações passíveis de automedicação (termos técnicos)
	<ul style="list-style-type: none"> e) Micoses interdigitais. f) Ectoparasitoses. g) Picadas de insectos. h) <i>Pitiríase capitis</i> (caspa). i) Herpes labial. j) Feridas superficiais. l) Dermate das fraldas. m) Seborreia. n) Alopecia. o) Calos e calosidades. p) Frieiras. q) Tratamento da pitiríase versicolor. r) Candidíase balânica. s) Anestesia tópica em mucosas e pele nomeadamente mucosa oral e rectal. t) Tratamento sintomático localizado de eczema e dermatite com diagnóstico médico prévio.
Nervoso/psique	<ul style="list-style-type: none"> a) Cefaleias ligeiras a moderadas. b) Tratamento da dependência da nicotina para alívio dos sintomas de privação desta substância em pessoas que desejem deixar de fumar. c) Enxaqueca com diagnóstico médico prévio. d) Ansiedade ligeira temporária.
Muscular/ósseo	<ul style="list-style-type: none"> e) Dificuldade temporária em adormecer. a) Dores musculares ligeiras a moderadas. b) Contusões. c) Dores pós-traumáticas. d) Dores reumáticas ligeiras moderadas (osteoarrose/osteoartrite). e) Dores articulares ligeiras a moderadas. f) Tratamento tópico de sinovites, artrites (não infecciosas), bursites, tendinites. g) Inflamação moderada de origem músculo-esquelética nomeadamente pós-traumática ou de origem reumática.
Geral	<ul style="list-style-type: none"> a) Febre (menos de três dias). b) Estados de astenia de causa identificada. c) Prevenção de avitaminoses.
Ocular	<ul style="list-style-type: none"> a) Hiposecreção conjuntival, irritação ocular de duração inferior a três dias. b) Tratamento preventivo da conjuntivite alérgica perene ou sazonal com diagnóstico médico prévio. c) Tratamento sintomático da conjuntivite alérgica perene ou sazonal com diagnóstico médico prévio.
Ginecológico . . .	<ul style="list-style-type: none"> a) Dismenorreia primária. b) Contraceção de emergência. c) Métodos contraceptivos de barreira e químicos. d) Higiene vaginal. e) Modificação dos termos de higiene vaginal por desinfeção vaginal. f) Candidíase vaginal recorrente com diagnóstico médico prévio. Situação clínica caracterizada por corrimento vaginal esbranquiçado, acompanhado de prurido vaginal e habitualmente com exacerbação pré-menstrual. g) Terapêutica tópica nas alterações tróficas do tracto génito-urinário inferior acompanhadas de queixas vaginais como disparêunia, secura e prurido.
Vascular	<ul style="list-style-type: none"> a) Síndrome varicoso — terapêutica tópica adjuvante. b) Tratamento sintomático por via oral da insuficiência venosa crónica (com descrição de sintomatologia).