

# Explorando Pesquisas e Descobertas em Biomedicina.



Vol./  
**02**

# CENTRO UNIVERSITÁRIO FILADÉLFIA DE LONDRINA

**Capa:** Sthefany Caroline de Oliveira Gonçalves

**Diagramação:** Graziela Cervelin

E96 Explorando pesquisas e Descobertas em Biomedicina: volume 2 /  
Organização Leandro Henrique Magalhães e Anelise  
Franciosi. – Londrina: UniFil, 2024.  
pdf

ISBN 978-65-87703-27-5 (v.1)

ISBN 978-65-87703-28-2 (v.2)

1. Educação. 2. Biomedicina. I. Franciosi, Anelise, org. II.  
Magalhães, Leandro Henrique, org. II. Título.

CDD 370

Bibliotecária responsável Graziela Cervelin CRB9/1834

**Explorando Pesquisas e  
Descobertas em Biomedicina:  
volume 2**

**Organizadores**

Anelise Franciosi

Leandro Henrique Magalhães

## SUMÁRIO

<b>USO DA ENZIMA HIALURONIDASE NA REVERSÃO DE QUADRO ISQUÊMICO CAUSADO POR PREENCHIMENTO DO SULCO NASOGENIANO COM ÁCIDO HIALURÔNICO .....</b>	<b>6</b>
Beatriz Cavalcante de Avelar Geraldis, Larissa Rodrigues Bosqui, Larissa Juliani Sanches	
<b>INFLUÊNCIAS GENÉTICAS E EPIGENÉTICAS NO TRANSTORNO DEPRESSIVO .....</b>	<b>26</b>
Maria Luísa Januário Lupo, Carolina Batista Ariza Tamarozzi, Andressa Megumi Niwa	
<b>BAIXA ABSORÇÃO NUTRICIONAL EM PACIENTES PÓS COVID E SEUS EFEITOS COLATERAIS .....</b>	<b>50</b>
Ana Paula Gomes Fernandes, Newton Hashimoto	
<b>OZONIOTERAPIA E SEUS BENEFÍCIOS DA SAÚDE À ESTÉTICA.....</b>	<b>83</b>
Adriana Vaz Scremim, Elisângela Gazzola Ramos Scremin, Larissa Juliani Sanches	
<b>DIABETES DO TIPO MODY E O COMPROMETIMENTO CLÍNICO ACARRETADO POR MUTAÇÕES NO GENE DA GLUCOQUINASE (GCK-MODY) .....</b>	<b>100</b>
Ana Luiza Moraes Rezende Teixeira, Andressa Megumi Niwa	
<b>ASPECTOS GENÉTICOS DA SÍNDROME DE RETT: ESTRUTURA E FUNÇÃO DO GENE <i>MECP2</i> .....</b>	<b>123</b>
Brenda Luiza Bairral Salvador, Carolina Batista Ariza Tamarozzi, Andressa Megumi Niwa	
<b>USO DA RADIOFREQUÊNCIA NÃO ABLATIVA NO REJUVENESCIMENTO FACIAL .....</b>	<b>143</b>
Fernanda Godoi Bueno Sella, Karina de Almeida Gualtieri	
<b>DETECÇÃO DE TEMPO PÓS-MORTE EM INVESTIGAÇÃO FORENSE UTILIZANDO COMO PESQUISA MICRORGANISMOS .....</b>	<b>160</b>
Eder Ignácio da Silva, Newton Hashimoto	
<b>COVID-19 E SUA CORRELAÇÃO COM ALTERAÇÕES NA FERTILIDADE MASCULINA .....</b>	<b>182</b>
Giulia Nascimento Diniz, Bruna Karina Banin-Hirata, Carolina Batista Ariza Tamarozzi	

<b>FATORES ASSOCIADOS AOS TRATAMENTOS ESTÉTICOS E A PATOGÊNESE DAS DOENÇAS AUTOIMUNES.....</b>	<b>200</b>
Julia Garcia Bozon Verduraz, Karina de Almeida Gualtieri	
<b>OZONIOTERAPIA COMO TERAPIA INTEGRATIVA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA .....</b>	<b>217</b>
Lucca Di Benedetto Cardozo, Karina de Almeida Gualtieri	
<b>FERTILIZAÇÃO IN VITRO E A POSSÍVEL INFLUÊNCIA DA VITAMINA D.....</b>	<b>232</b>
Maria Clara Fontes Pacheco, Carolina Batista Ariza Tamarozzi, Anelise Franciosi	
<b>SÍNDROMES DEMENCIAIS: UMA EPIDEMIA MODERNA.....</b>	<b>252</b>
Anna Caroline Rodrigues França Arrabaça, Julia Beninni Ló, Anna Julia de França, Leonardo Magalhães, Carolina Batista Ariza Tamarozzi, Anelise Franciosi	
<b>PAPILOMA VÍRUS HUMANO (HPV): OS RISCOS DA DOENÇA PARA A SAÚDE ÍNTIMA DA MULHER E SUA RELAÇÃO COM O CÂNCER DO COLO DO ÚTERO .....</b>	<b>278</b>
Heloísa Belieiro Tondinelli, Alberto Yoichi Sakaguchi	
<b>MARCADORES MOLECULARES: APLICAÇÃO E ANÁLISE COMO FERRAMENTA DE IDENTIFICAÇÃO HUMANA .....</b>	<b>297</b>
Pamella Rodrigues da Silva, Carolina Batista Ariza Tamarozzi	
<b>TERAPIA LARVAL: TRATAMENTO ALTERNATIVO DE FERIDAS CRÔNICAS COM LARVAS NECRÓFAGAS.....</b>	<b>316</b>
Bruna Gil Aguiar, Bruna Karina Banin Hirata, Newton Hashimoto	
<b>MECANISMOS GENÉTICOS PRESENTES NO DIAGNÓSTICO E PROGNÓSTICO DA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA.....</b>	<b>346</b>
Eduardo Rosa Mantovani, Anelise Franciosi, Andressa Megumi Niwa	
<b>DESINFORMAÇÃO POPULACIONAL E A INFLUÊNCIA NA EFETIVIDADE DO DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA MALÁRIA .....</b>	<b>364</b>
Fernanda Barbosa Costa, Anelise Franciosi	
<b>CÂNCER CERVICAL CAUSADO PELO PAPILOMAVÍRUS HUMANO: UMA REVISÃO DE LITERATURA SOBRE O IMPACTO GERADO PELAS VARIANTES 16 E 18 NO CENÁRIO BRASILEIRO .....</b>	<b>396</b>
Giovana Reis Portugal Pozatto, Anelise Franciosi	

<b>RELAÇÃO ENTRE A MUSICALIDADE GESTACIONAL E O DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO E AUDITIVO DO BEBÊ .....</b>	<b>422</b>
Lóris Cristina Rodrigues, Carolina Batista Ariza Tamarozzi, Anelise Franciosi	
<b>PSEUDOMONAS AERUGINOSA: A LUTA CONTRA RESISTÊNCIA BACTERIANA A ANTIBIÓTICOS .....</b>	<b>445</b>
Nathalia Imazu Yoshida, Ariane Mayumi Saito Bertão	
<b>ALTERAÇÕES GENÉTICAS E COMPORTAMENTAIS ASSOCIADAS AO TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA (TEA) E A IMPORTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO PRECOCE.....</b>	<b>467</b>
Ana Carolina Bento, Andressa Megumi Niwa	
<b>PRINCIPAIS MARCADORES LABORATORIAIS NA GRAVIDADE DE INFECÇÃO PELO NOVO CORONAVÍRUS - SARS-CoV-2.....</b>	<b>496</b>
Ana Carolina Bispo Ivanaga, Alberto Yoichi Sakaguchi	
<b>PERSPECTIVAS GENÉTICAS SOBRE A ESQUIZOFRENIA.....</b>	<b>516</b>
André Gustavo de Souza Anselmo, Andressa Megumi Niwa	
<b>CONTEXTUALIZAÇÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS DA TERAPIA GÊNICA NO TRATAMENTO DO CÂNCER DE PULMÃO .....</b>	<b>539</b>
Andresa Hiromi Sakai, Bruna Karina Banin Hirata, Andressa Megumi Niwa	
<b>OCORRÊNCIA DE ERROS PRÉ-ANALÍTICOS E O IMPACTO DE AÇÕES CORRETIVAS EM LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS .....</b>	<b>563</b>
Rebeca Carreira dos Santos, Alberto Yoichi Sakaguchi	
<b>IMUNOTERAPIA COM ANTICORPOS MONOCLONAIS COMO UM NOVO TRATAMENTO DE CÂNCER DE PULMÃO DE PEQUENAS CÉLULAS .....</b>	<b>583</b>
Bruna Cardozo Rodolfo, Bruna Karina Banin Hirata, Andressa Megumi Niwa	
<b>INFERTILIDADE FEMININA .....</b>	<b>602</b>
Caroline Raia de Araújo, Anelise Franciosi	
<b>TDAH: ALTERAÇÕES NEUROLÓGICAS E O USO DO FÁRMACO METILFENIDATO .....</b>	<b>621</b>
Hiram Kohata Aquino, Mariana Stinglin Rosa Ribas	
<b>DOENÇA DE PARKINSON: FISIOPATOLOGIA, DIAGNÓSTICO, TRATAMENTO E ASPECTOS EPIGENÉTICOS .....</b>	<b>637</b>
Júlia Keneipp Ferreira, Andressa Megumi Niwa	

**AÇÕES PLEIOTRÓPICAS DA PROLACTINA NO ORGANISMO FEMININO ..666**  
Maria Eduarda Monarin Ramos, Milene Leivas Vieira, Alberto Yoichi Sakaguchi

**A CRESCENTE CRISE DO USO ILÍCITO DE FENTANIL, OVERDOSE E  
POTENCIAIS ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS .....698**  
Maria Eduarda Sala Guagnini, Newton Hashimoto

**OS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA NA MANUTENÇÃO  
FISIOLÓGICA, NO DESEMPENHO ESPORTIVO E NA PREVENÇÃO DE  
DIABETES MELLITUS.....722**  
Mariana Veiga, Alberto Yoichi Sakaguchi

**IDENTIFICAÇÃO HUMANA POR DNA MITOCONDRIAL .....740**  
Natalia Felix da Silva, Carolina Batista Ariza Tamarozzi

**CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS: CARACTERÍSTICAS,  
PATOGENICIDADE E IMPLICAÇÕES CLÍNICAS NA SAÚDE HUMANA.....761**  
Mariah Eduarda Gomes Silva, Ariane Mayumi Saito Bertao

**O USO DE MÉTODOS NÃO CONVENCIONAIS PARA O TRATAMENTO DE  
INFECÇÕES POR STAPHYLOCOCCUS aureus RESISTENTE À  
METICILINA .....796**  
Gloria Carneiro, Ariane Mayumi Saito Bertão

**MASKNE: UMA ABORDAGEM DE ALTERAÇÕES CUTÂNEAS  
RELACIONADAS AO USO PROLONGADO DE MÁSCARAS FRENTE À  
PANDEMIA DA COVID-19 .....819**  
Thaís Fernanda Kauffuman Pereira Carvalho, Karina de Almeida Gualtieri

**ABORDAGENS DA TOXINA BOTULÍNICA NO TRATAMENTO DE  
DISFUNÇÕES .....837**  
Thayná de Souza Frachini, Karina de Almeida Gualtieri

**HIV E SUAS ALTERAÇÕES EM CÉLULAS DE DEFESA LEVANDO A  
IMUNOSSUPRESSÃO .....855**  
Chede Keith Rodrigues Izuhara Barbieri, Anelise Franciosi

# USO DA ENZIMA HIALURONIDASE NA REVERSÃO DE QUADRO ISQUÊMICO CAUSADO POR PREENCHIMENTO DO SULCO NASOGENIANO COM ÁCIDO HIALURÔNICO

## USE OF HYALURONIDASE ENZYME IN REVERSAL ISCHEMIC PAYMENT CAUSED BY FILLING THE NASOGENIAN GROOVE WITH HYALURONIC ACID

Beatriz Cavalcante de Avelar Geraldis<sup>1</sup>

Larissa Rodrigues Bosqui<sup>2</sup>

Larissa Juliani Sanches<sup>3</sup>

6

### RESUMO

Com crescente utilização nos procedimentos de volumização facial, o ácido hialurônico é um preenchedor considerado seguro, pouco invasivo com resultados quase imediatos. A incidência de eventos adversos é baixa, porém, alguns fatores influenciam a sua ocorrência, como técnica inadequada e variações anatômicas. Complicações vasculares podem gerar danos irreversíveis ao tecido, sendo indispensável ao profissional conhecimento dos parâmetros de diagnóstico e tratamento apropriados. Neste cenário, a hialuronidase tem se destacado pela capacidade de degradar por ação enzimática as moléculas de ácido hialurônico e tem sido amplamente utilizada em intercorrências ocasionadas pelo preenchedor, todavia em uso off-label e não possui orientações específicas de dosagem, contraindicações e eficiência. Na literatura, atribuem a hialuronidase como potencial causa de reações alérgicas na anestesiologia, porém poucos na aplicação estética. Desta forma, este estudo de caso tem como objetivos demonstrar a aplicabilidade de protocolos de tratamento com hialuronidase associado a laserterapia, bem como analisar as possíveis causas de complicações vasculares na região de sulco nasogeniano após preenchimento com ácido hialurônico, através da análise de prontuário e fotodocumentação, juntamente com revisão bibliográfica em plataformas de pesquisa online. A reversão do processo isquêmico foi observada após grande quantidade de hialuronidase injetada, possivelmente devido ao histórico alérgico da paciente a insetos, já que eles possuem hialuronidase na composição de seu veneno. O caso apresenta resultado satisfatório e mostra aplicabilidade do LASER de baixa potência no processo de cicatrização. Conclui-se que a enzima traz excelentes resultados na aplicação estética, necessitando de regulamentação e definição de protocolos que tragam segurança e eficiência.

**Palavras-chave:** ácido hialurônico; hialuronidase; intercorrência; laser de baixa potência.

<sup>1</sup> Graduanda do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia - UniFil.  
beatriz.cavalcante@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Co-orientador: Professora Dra. Larissa Rodrigues Bosqui da Universidade Estadual de Londrina – UEL. larissabosqui@uel.br

<sup>3</sup> Orientador: Professora Dra. Larissa Juliani Sanches do Centro Universitário Filadélfia - UniFil.larissa.sanches@unifil.br

## ABSTRACT

With increasing use in facial volumization procedures, hyaluronic acid is a filler considered safe, non-invasive and with almost immediate results. The incidence of adverse events is low, however, some factors influence their occurrence, such as inadequate technique and anatomical variations. Vascular complications can cause irreversible tissue damage, making it essential for professionals to know the appropriate diagnostic and treatment parameters. In this scenario, hyaluronidase has stood out for its ability to degrade hyaluronic acid molecules through enzymatic action and has been widely used in complications caused by the filler, however in off-label use and does not have specific dosage guidelines, contraindications and efficiency. In the literature, hyaluronidase is attributed as a potential cause of allergic reactions in anesthesiology, but few in aesthetic applications. Therefore, this case study aims to demonstrate the applicability of treatment protocols with hyaluronidase associated with laser therapy, as well as to analyze the possible causes of vascular complications in the nasolabial fold region after filling with hyaluronic acid, through the analysis of medical records and photo documentation, along with bibliographic review on online research platforms. Reversal of the ischemic process was observed after a large amount of hyaluronidase was injected, possibly due to the patient's allergic history to insects, as they contain hyaluronidase in the composition of their venom. The case presents a satisfactory result and shows the applicability of low-level LASER in the healing process. It is concluded that the enzyme brings excellent results in aesthetic application, requiring regulation and definition of protocols that bring safety and efficiency.

**Keywords:** hyaluronidase; hyaluronic acid; intercurrent; low-level laser.

## 1 INTRODUÇÃO

Ao longo do processo de envelhecimento é progressiva e natural a redução da concentração de ácido hialurônico na pele, somado às diversas alterações cutâneas, musculares, reabsorção óssea, deslocamento de compartimentos de gordura e até mesmo sua diminuição, resultam no aparecimento de rugas e sulcos pela falta de sustentação e elasticidade da pele (NERI et al., 2013). A busca por terapias acessíveis levou à popularização de preenchedores dérmicos, que em muitos casos substituem procedimentos cirúrgicos invasivos, trazendo resultados rápidos, de menor custo e tempo de recuperação (FUNT; PAVICIC, 2013).

A procura por um preenchedor considerado ideal, que seja seguro, biocompatível, reversível, duradouro e com outras qualidades, se iniciou há décadas atrás. Historicamente, os primeiros preenchedores relatados provêm de fontes diversas, como a parafina, descrita pelo austríaco Gersuny (1899), com aplicação em

rinomodelação; o silicone industrial, sucesso nos EUA e Japão na década de 40 e 60, e o colágeno bovino na década de 80. Todas as tentativas tiveram altas taxas de complicações, que levaram ao abandono ou proibição dessas substâncias para fins estéticos nos anos seguintes (DAHER et al., 2019).

Outros procedimentos, como o enxerto de tecido adiposo, inicialmente descrito por Neuber (1893) e difundido por Illouz (1982), teve bons resultados no quesito segurança. Assim, com o desenvolvimento de novas técnicas, modificadas e aperfeiçoadas, ainda hoje tem ampla utilização, porém com algumas limitações (CARPANEDA; CARPANEDA, 2013).

Em 1934 o ácido hialurônico de origem bovina foi descoberto por Meyer e Palmer (DAHER et al., 2019). Alterações químicas trouxeram estabilidade e tolerância imune aos produtos à base de ácido hialurônico (AH) com finalidade estética, sendo finalmente aprovado em 2003 pela FDA (Food and Drug Administration) nos EUA o primeiro preenchedor de AH e mundialmente popularizado, especialmente pelas vantagens em tratamentos estéticos para volumização facial (DAHER et al., 2019; TEZEL; FREDRICKSON, 2008).

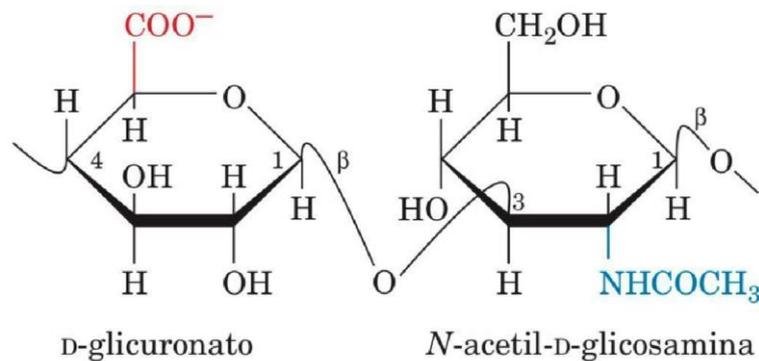
Por ser considerado seguro, com resultados quase imediatos e naturais, além da possibilidade de reversão quando necessário, o ácido hialurônico passou a ser um dos procedimentos favoritos nos tratamentos de volumização. A procura por procedimentos estéticos com o objetivo de rejuvenescimento facial trouxe destaque e popularização mundial aos preenchedores (NERI et al., 2013).

Quimicamente, o ácido hialurônico (hialuronana) é um glicosaminoglicano (GAG), polissacarídeo linear composto de unidades dissacarídicas polianiónicas ligadas por ligações  $\beta$ -1,4 que consistem em ácido D-glicurônico e N-acetil-D-glicosamina ligados por uma ligação  $\beta$ -1,3, conforme ilustrado na figura 1. Uma molécula composta de 250 a 25.000 unidades dissacarídicas, isso confere ao AH uma alta massa molecular, altamente hidratada e de comportamento viscoelástico variável (VOET, 2013).

É um importante componente dos GAGs da matriz extracelular da pele, do líquido sinovial, cartilagens e tendões e do humor vítreo dos olhos, sendo um importante componente estrutural, dando viscosidade, adesão e resistência à compressão. O AH também faz parte da composição de certas bactérias, em sua

estrutura capsular (VOET, 2013; LEHNINGER, 2014).

**Figura 1** - Fórmula molecular espacial da unidade repetitiva dissacarídica do Ácido Hialurônico.



### Hialuronato

Fonte: Voet (2013) adaptado pelo autor.

O AH é sintetizado na membrana plasmática de fibroblastos e outras células da pele e sua produção aumenta a partir de estímulos físicos e químicos. Pode ser obtido a partir de fontes biológicas, podendo ser encontrado em quantidades significativas no tecido da crista de galo (ROSA, 2008). Porém, devido à demanda de processos complexos de purificação, a polimerização via fermentação de bactérias, como cepas de *Streptococcus spp*, é considerada um método alternativo de produção mais vantajoso, apresentando bom rendimento, grau de pureza ótimo (OGRODOWSKI, 2006).

Outras técnicas de produção são desenvolvidas e aprimoradas, como a produção de AH recombinante provinda de cepas de bactérias não patogênicas. Além da pureza, o controle das cepas e condições do meio são um importante fator, visto que permitem controlar as propriedades químicas esperadas do produto, semelhantes ao encontrado na membrana extracelular humana, já que características reológicas do AH são variantes fundamentais de acordo com sua finalidade (OGRODOWSKI, 2006; LIU *et al.*, 2011).

Além da terapia estética, o ácido hialurônico pode ser utilizado na saúde com outras finalidades: como meio de suporte pós cirúrgico, no tratamento de doenças degenerativas e inflamatórias das articulações dos ossos e, na liberação controlada de fármacos (OGRODOWSKI, 2006; LIU *et al.*, 2011).

Muitas variáveis físicas e químicas diferem o desempenho de um preenchedor de ácido hialurônico, tais como o tipo de reticulador utilizado, grau de reticulação, dureza do gel, viscosidade, força de extrusão, consistência do gel, concentração total de AH e tempo de vida na pele (TEZEL; FREDRICKSON, 2008; OLIVEIRA, 2017). Isso porque as propriedades reológicas específicas de cada tipo de preenchedor interferem diretamente em seu comportamento após a injeção no tecido, tendo conhecimento destas, é possível obter um resultado clínico seguro e satisfatório (SUNDARAM et al., 2010).

As propriedades reológicas de um produto são um fator determinante para a sua durabilidade. A hialuronidase endógena inicia rapidamente o processo de degradação do injetável quando este está pouco reticulado, diminuindo seu tempo de meia vida. A reticulação é um processo que pode ser induzido nas moléculas por meio de ativos reticulantes (crosslinkers), como o éter diglicídico de 1,4-butanodiol (BDDE) e a divinilsulfona (DVS), estes promovem a ligação entre polímeros de AH, formando uma rede mais estável e resistente à degradação enzimática (TEZEL; FREDRICKSON, 2008).

Os AH reticulados são classificados entre géis bifásicos e monofásicos. Os géis bifásicos são compostos por moléculas de ácido hialurônico reticuladas suspensas em AH pouco ou não reticulado usado como transportador e lubrificante. A composição dos géis monofásicos é variável quanto à quantidade de moléculas de AH de alto e baixo peso molecular. Além disso, é possível variar o grau de reticulação do gel monofásico alterando a quantidade de etapas de reticulação empregadas, gerando géis mono ou polidensificados (FLYNN, 2011).

Comercialmente, os injetáveis são classificados como de baixa, média e alta reticulação e possuem indicações específicas quanto a região, profundidade e finalidade estética. Atualmente, o AH também é protagonizado na composição de cosmeceúticos e dermocosméticos para uso diário, com propriedades diferentes dos géis para volumização, nestes tem principalmente função hidratante por possuir AH não reticulado de baixo peso molecular. Estudos demonstram que o hialuronato acetilado (uma derivação do AH), inserido em uma rotina de cuidados diária e de prazo contínuo, é capaz de retardar os efeitos do envelhecimento intrínseco por estimular a produção e inibir a degradação do colágeno tipo I da pele (MEUNIER et al., 2022;

CHEN; GUO; WU, 2023).

Embora seja um componente fisiológico e tenha reduzido o risco de rejeição por sua biocompatibilidade, a utilização do ácido hialurônico não está isenta de eventuais riscos decorrentes de má técnica, acidentes e variações anatômicas (ALMEIDA et al., 2017).

Mesmo sendo baixa a incidência de reações adversas decorrente da aplicação de preenchedores com ácido hialurônico (menor que 1%), fatores importantes como anatomia e técnica podem levar à ocorrência de intercorrências durante ou após um procedimento. O acompanhamento pós procedimento é indispensável para observar a evolução de possíveis complicações, especialmente as que possuem evolução danosa rápida, como complicações vasculares (DELORENZI, 2014; ALMEIDA et al., 2017).

Os eventos adversos (EAs) relacionados ao AH podem ser descritos de diversas formas, como hematomas, hipersensibilidade, edema, nódulos, parestesia, complicações vasculares, entre outros. Almeida et al. (2017) sugeriram uma classificação de acordo com três intervalos de tempo: início imediato (em até 24 horas), início precoce (de 24 horas até 30 dias) e início tardio (depois de 30 dias), com sinais e sintomas comuns em cada tempo e possíveis diagnósticos. Propondo um algoritmo para diagnóstico e tratamento dos EAs mais observados, focaram em protocolos seguros e eficazes abordando terapias combinando medicamentos, laser/luz pulsada e procedimentos tópicos.

Entre as complicações possíveis, o comprometimento vascular é o mais preocupante. Pode ocorrer por injeção intravascular, compressão por grande volume de AH e/ou injúria vascular, diminuindo o suprimento sanguíneo local pela obstrução. Se não identificada e tratada a tempo, leva à isquemia e necrose. A apresentação clínica da isquemia é vista quase imediatamente, com dor e branqueamento da região (DELORENZI, 2013).

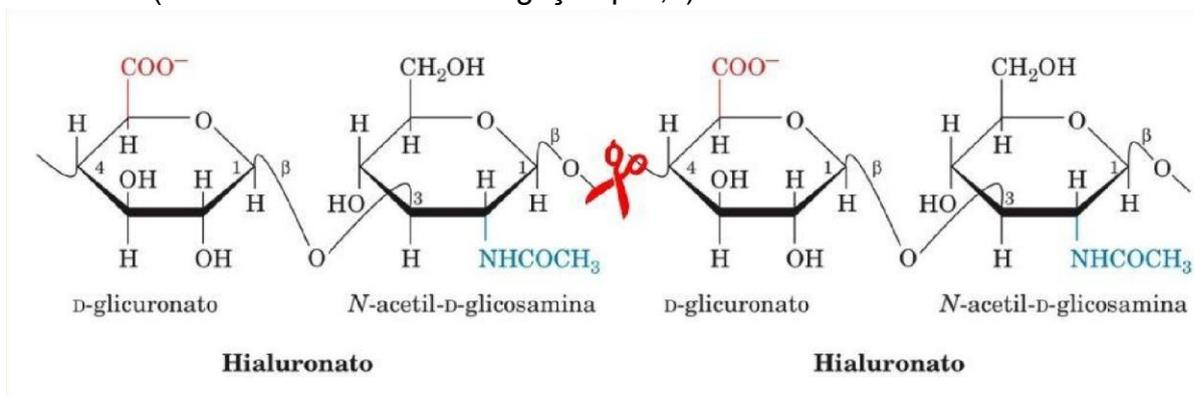
Algumas áreas da face como região glabellar, sulco nasolabial e dorso nasal são consideradas de maior risco, dada a vascularização pelos ramos das artérias angular, facial, ocular e suas anastomoses. Alguns fatores de risco são considerados: localização, volume de preenchedor, uso de agulhas pequenas, tipo de preenchedor (DELORENZI, 2013). A fim de prevenir intercorrências no sulco nasolabial, Almeida e

colaboradores (2017), recomendam injeção com agulha intradérmica ou supraperiosteal, e canulação para aplicações subcutâneas. As intercorrências mais comuns podem afetar a região perioral, periorbital e nasal, dependendo da altura da injeção do preenchedor, gerando nódulos, edema, telangiectasia, complicação vascular, alterações visuais (TAMURA, 2013).

Na literatura são descritos variados protocolos de tratamento na reversão de complicações causadas pelo uso de preenchedores de HA, entre os mais aplicados está a administração da enzima hialuronidase (HYAL) (NERI et al., 2013; ROCHA, 2018). Indicado para tratar nódulos, excesso de produto, depósito no plano incorreto, assimetrias, efeito Tyndall, granulomas e oclusão vascular (ALMEIDA; SALIBA, 2015).

A hialuronidase é uma proteína de ação enzimática capaz de hidrolisar reversivelmente o ácido hialurônico na ligação  $\beta$ -1,4 entre o ácido D-glicurônico e N-acetil-D-glicosamina, conforme representado na figura 2 (VOET, 2013).

**Figura 2** - Estrutura molecular do ácido hialurônico e local de ação da hialuronidase (tesoura vermelha entre ligação  $\beta$ -1,4).



Fonte: Voet (2013) adaptado pelo autor.

Devido a capacidade de aumentar a permeabilidade capilar e tecidual, a HYAL é amplamente usada na anestesiologia médica por facilitar a dispersão e absorção de anestésicos locais. Com base no seu mecanismo de ação, nos últimos 15 anos passou a ser empregada em protocolos de tratamento de complicações causadas por preenchedores de AH. No Brasil, sua utilização para fins dermatológicos ainda não foi aprovada pela agência reguladora, no entanto, é praticada off label por meio manipulação farmacêutica ou de formulações aprovadas para outras especificações (ALMEIDA et al., 2017).

Assim como o ácido hialurônico pode ser produzido com diferentes propriedades químicas e físicas e por fontes diversas, a HYAL pode ser obtida a partir das fontes bovina, ovina ou DNA humano recombinante, e fabricada em diferentes formulações. A capacidade de degradação da enzima varia de acordo com a sua formulação e pelas propriedades reológicas do injetável alvo (WOLFE et al., 2019).

O conhecimento limitado dos mecanismos envolvidos na farmacocinética da hialuronidase, tanto endógena quanto exógena, e a ausência da regulamentação do seu uso para fins dermatológicos, traz dúvidas em relação à escolha do protocolo mais eficaz e seguro (CAVALLINI et al., 2013).

Deste modo, este estudo de caso tem o objetivo demonstrar a aplicabilidade de protocolos de reversão e tratamento utilizando a hialuronidase associada ao LASER de baixa potência em intercorrência vascular, bem como analisar as possíveis causas de complicações vasculares na região de sulco nasogeniano após preenchimento com ácido hialurônico reticulado. Além disso, relacionar a resistência da ação da HYAL exógena em paciente com histórico de reação alérgica a insetos.

## **2 METODOLOGIA**

O trabalho de conclusão de curso foi desenvolvido com base em um estudo de caso clínico, ocorrido no ano de 2022. Realizado a partir da análise de fotodocumentação e informações disponíveis em prontuário, cedido pela Dra. Larissa Rodrigues Bosqui, referente ao tratamento de uma intercorrência após aplicação de ácido hialurônico em preenchimento de sulco nasogeniano em paciente com sigilo assegurado. Juntamente com a revisão bibliográfica do tipo narrativa sobre ácido hialurônico e hialuronidase na estética. Os artigos utilizados foram encontrados nas plataformas de pesquisa Google Acadêmico, SciELO, PubMed CAPES e bibliotecas digitais. Os artigos consultados foram aqueles publicados nos idiomas português, inglês, espanhol e francês, no período de 2005 a 2023. Os critérios de exclusão foram artigos fora do período de inclusão, resumos e artigos duplicados.

## **3 CASO CLÍNICO**

Paciente do sexo feminino, A.R.S., 39 anos, realizou pela segunda vez, após

10 meses, o preenchimento de sulco nasogeniano com ácido hialurônico. Foi utilizado 1 mL de ácido hialurônico da marca Rennova Lift, sendo dividido 0,4 mL por lado e 0,1 mL por fossa canina.

O Rennova Lift é um preenchedor monofásico à base de ácido hialurônico de alta reticulação com tecnologia XPM Tech™, possui concentração igual a 23 mg/ml (RENNOVA, 2023). É indicado para preenchimentos de grau profundo, via subcutânea ou supraperióstea, para correção de sulcos e rugas marcadas.

A paciente saiu do consultório sem queixas, sem isquêmica ou sinais de anormalidades imediatas pós procedimento. Após quatro horas do procedimento, a paciente relatou dor e dormência na região próxima ao nariz. Em contato com a profissional, seis horas após o procedimento, sob a suspeita de oclusão vascular por compressão ou entupimento, foi imediatamente aplicado 3.000UTR de Hialuronidase da marca Biometil (origem testicular bovina purificada), diluído em 3 mL de água para injetável, resultando na concentração 300 UI/mL, distribuída por toda extensão do sulco nasogeniano direito (Fotografia 1). Como a paciente relatou alergia a insetos, inclusive abelhas, pelo risco de reação alérgica à hialuronidase, foi administrada, no momento do atendimento por via intramuscular, uma injeção de betatrinta 5 mg/ml.

Na literatura e na clínica, são relatados casos de hipersensibilidade ou reações alérgicas à hialuronidase exógena em pacientes. Alguns autores sugerem excipientes e impurezas como causa de hipersensibilidade (MURRAY, 2021), outros sugerem a ocorrência de reação cruzada à hialuronidase encontrada no veneno de insetos, em algumas espécies de abelhas, vespas e formigas da ordem *Hymenoptera*. O veneno destes insetos varia os componentes tóxicos para cada espécie, e por meio do teste de sensibilidade pode ser feita a associação da reação alérgica ao componente hialuronidase (KELLER, 2014).

No dia seguinte, após 8h da aplicação da hialuronidase, a paciente foi reavaliada e ainda referia dores, dormência e isquemia que irradiava para a região nasal. Nesse período foram receitados anti-inflamatório e analgésico, além de pomada à base de heparina sódica.

**Fotografia 1** - Pós imediato da primeira aplicação de Hialuronidase.



**Fonte:** Cedida por Larissa Rodrigues Bosqui (2022).

Foram administrados mais 4 aplicações de hialuronidase (3.000UTR cada dose) com intervalos de uma hora entre cada dose. A intercorrência foi finalmente revertida após a 4ª aplicação, totalizando 5 doses de hialuronidase em 2 dias de tratamento (Fotografia 2).

Em decorrência ao processo isquêmico, foram necessárias 3 sessões de laserterapia 3J e ILIB terapia sistêmica a cada 48h para recuperação do tecido. A coloração e recuperação total do tecido, ocorreu em média de 45 dias após a última aplicação de hialuronidase.

A associação do tratamento medicamentoso com a terapia com laser traz bons resultados em casos de inflamação, cicatrização e edema nos tecidos. Estudos mostram que o laser de baixa potência, fotografia 3, pode ter efeito biomodulador no tecido, visto que a interação da radiação não ionizante nos tecidos tem efeito antiinflamatório e estimula a secreção de fatores de crescimento, auxiliando no reparo tecidual especialmente nos processos iniciais da cicatrização (PIVA *et al.*, 2011).

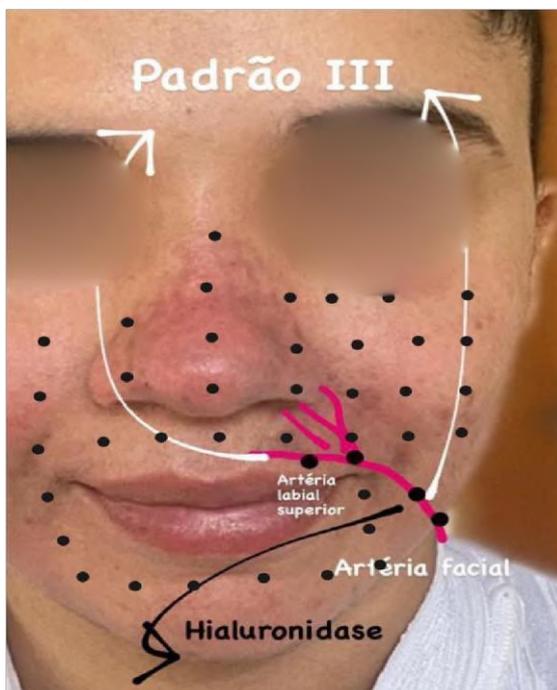
Na Fotografia 4 é possível observar o resultado do tratamento imediatamente após a última sessão de laser, com restabelecimento da coloração normal da área afetada, com reversão bem sucedida do quadro isquêmico.

**Fotografia 2** - Evolução durante o tratamento. Projeção do suposto trajeto da oclusão vascular em rosa.



**Fonte:** Cedida por Larissa Rodrigues Bosqui (2022).

**Fotografia 3** - Mapeamento dos pontos de aplicação do Laser de baixa potência nos pontos pretos.



**Fonte:** Cedida por Larissa Rodrigues Bosqui (2022).

**Fotografia 4** - Após as aplicações de HYAL e sessões de Laser de baixa potência.



**Fonte:** Cedida por Larissa Rodrigues Bosqui (2022).

#### 4 DISCUSSÃO

O comprometimento vascular é um evento adverso de ocorrência imediata, causada por compressão ou oclusão do vaso. O impedimento do fluxo sanguíneo pode evoluir de um processo isquêmico para necrosante, principalmente quando derivado de um evento embólico. A anatomia facial é bem definida, porém, bem variada (FUNT; PAVICIC, 2013).

Dessa forma, existem alguns pontos de preenchimento que possuem maiores riscos relacionados à oclusão, que é o caso do sulco nasogeniano. A vascularização da região pode definir os efeitos isquêmicos quando bem observada a evolução do quadro. Na intenção da volumização do chamado bigode chinês, a região de escolha para o preenchimento é no sulco nasogeniano/nasolabial e fossa canina. Nessas regiões, as principais complicações envolvem a artéria facial, artéria angular, artéria labial superior, artéria nasal lateral, veia facial que as irrigam (TAMURA, 2013).

O sistema carotídeo externo irriga a região inferior da face, e ramificado dá origem às principais artérias. A artéria facial é um ramo da artéria carótida externa, se origina próxima ao ângulo da mandíbula, ascende obliquamente acompanhando o sulco nasogeniano e termina ao nível do ângulo interno no olho com o nome de artéria angular e anastomosa-se com ramos da artéria oftálmica. Sofre ramificações

colaterais ao longo do seu percurso, como artérias labiais superior e inferior e artéria nasal lateral e dorso nasal (ISOLAN et al., 2012).

As variações anatômicas são um grande desafio, já que não são visíveis a olho nu. Estudos realizados a partir de exames de imagem, como angiografia e angiotomografia computadorizada e através de dissecação de cadáver, demonstram padrões de variação da ramificação da artéria facial, onde a ramificação final pode ser vista na artéria nasal lateral, labiais ou angular. Pode ainda ter padrão simétrico ou assimétrico em relação à bilateralidade das características anatômicas da face (PINAR, BILGE, GOVSA, 2005; LEE et al., 2018; HONG et al., 2020).

Caso haja prejuízo no fluxo vascular do sulco nasogeniano, as anastomoses do ramo da artéria facial e angular podem levar à perda de visão por oclusão do sistema arterial oftálmico, seja por embolia ou compressão. Assim, podem ser observadas complicações distantes da região preenchida originalmente (WOLFE et al., 2019).

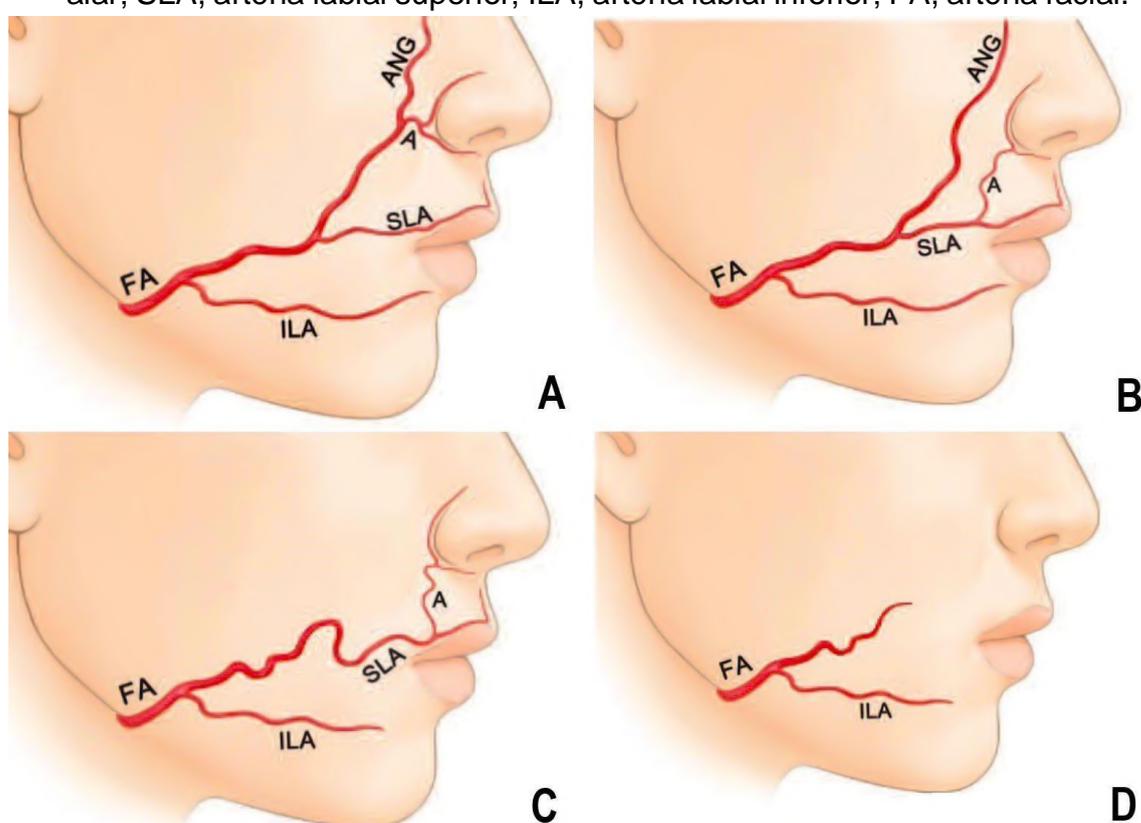
Nos procedimentos de volumização do sulco nasogeniano, as principais causas de intercorrências se dão pelas variações anatômicas da artéria facial e por técnica inadequada. A quantidade de preenchedor utilizado depende da profundidade da ruga, e para a sua sustentação é necessária concentração de gel na fossa canina, por segurança recomenda-se aplicação periosteal, visto que a artéria facial é mais superficial nesta região.

No caso relatado, a paciente refere dor, dormência e isquemia que irradiavam para a região nasal. É possível inferir que houve oclusão do vaso por compressão de volume de AH reticulado na artéria facial e/ou artéria angular na fossa nasal, de acordo com a coloração isquêmica visualizada na região nasogeniana, nasal e de lábio superior. A artéria nasal lateral ramifica-se da artéria facial na altura da asa do nariz, e ramifica-se para vascularização do dorso e lóbulo do nariz, e a artéria labial superior origina-se da artéria facial no nível do lábio e vasculariza a região do lábio superior (ISOLAN et al., 2012).

Diferentes apresentações das ramificações das artérias labial superior e angular a partir da artéria facial podem ser observadas na figura 3. Considerando toda a região para preenchimento do sulco nasogeniano, algumas possibilidades para uma intercorrência vascular podem ser avaliadas. É possível deduzir, a partir da apresentação clínica da paciente, semelhanças com o padrão III citado por LEE et al.

(2015). A oclusão em um ponto inferior da artéria facial prejudicaria o suprimento da região superior labial, enquanto que uma oclusão na fossa canina afetaria o suprimento sanguíneo da região nasal.

**Figura 3** - Variação anatômica da artéria labial superior em relação à ramificação da artéria facial. (A) Tipo I, ramo da artéria labial superior e ramo alar surgem diretamente e separadamente à artéria facial. (B) Tipo II, a artéria labial superior surge diretamente da artéria facial e emite um ramo alar. (C) Tipo III, a artéria facial termina em labial superior que se ramifica em alar. (D) Tipo IV, ausência de artéria labial superior. ANG, artéria angular; A, ramo alar; SLA, artéria labial superior; ILA, artéria labial inferior; FA, artéria facial.



Fonte: LEE et al. (2015) adaptado pelo autor.

Estudos demonstram que a alta reticulação de um preenchedor, associado a altos valores das suas propriedades reológicas viscoelásticas, estão relacionadas à uma maior capacidade de resistência à alterações de forma e degradação por ação da hialuronidase endógena e exógena (COSTA et al., 2013) e que, géis monofásicos possuem maior resistência à hidrólise enzimática por hialuronidase (DELORENZI, 2013). Sabendo que o preenchedor Rennova Lift possui altas propriedades reológicas, supõe-se que este seja um fator contribuinte para a resistência ao tratamento com

hialuronidase.

As hialuronidasas comercializadas têm origem e propriedades variadas. Neste caso foi utilizado hialuronidase testicular bovina purificada (marca Biometil, disponível no Brasil), que hidrolisa a molécula de AH em tetrassacarídeos que são mais facilmente absorvíveis pelo tecido. Estudos demonstram que a HYAL da abelha possui sequências semelhantes às HYAL de fonte testicular bovina (GIRISH; KEMPARAJU, 2007).

Naturalmente nos tecidos e sangue circula hialuronidase endógena, envolvida em diversos processos fisiológicos e patológicos. A meia vida sérica da hialuronidase varia em até 2 minutos, sendo inativada por diversos fatores. Quando administrada por via subcutânea, tem ação imediata que pode durar de 24h a 48h (ALMEIDA; SALIBA, 2015).

Para a manutenção do equilíbrio do anabolismo e catabolismo do AH, existem diversos inibidores da atividade enzimática da HYAL. Algumas medicações, como cortisona, estrógenos, hormônio adrenocorticotrófico, salicilatos e anti-histamínicos, agentes antiinflamatórios, vitamina C, antioxidantes, GAGs e outros, parecem aumentar a resistência tecidual à ação enzimática da hialuronidase por atuarem como antagonistas desta (GIRISH; KEMPARAJU, 2007; CAVALLINI et al., 2013; ALMEIDA; SALIBA, 2015). No entanto, a maioria dos testes são realizados *in vitro*, o que exclui o entendimento de fatores ambientais importantes envolvidos na inibição da enzima.

Relatos sobre a utilização da hialuronidase em anestésicos oftálmicos sugerem a enzima como uma potencial causa de reações alérgicas. Há, no entanto, poucos relatos no que diz respeito à sua utilização intradérmica no tratamento de complicações causadas por preenchedores de AH (WU et al., 2017). São frequentemente descritas mais reações adversas do que reações alérgicas, visto que o processo inflamatório no local pode levar ao aparecimento de edemas, inchaço e vermelhidão.

Ainda hoje, a utilização da HYAL para fins dermatológicos não é aprovada e nem regulamentada no Brasil, assim, o uso off label traz um cenário incerto no que diz respeito às contraindicações, hipersensibilidade, dosagem e eficiência. Porém, seguindo a experiência clínica, é prática a administração de antialérgicos e antiinflamatórios para pacientes alérgicos a fim de prevenir reações adversas.

Dentro das possibilidades de tratamentos para o reparo dos danos causados pela intercorrência nesse caso, a associação da terapia medicamentosa à laserterapia apresentou resultado satisfatório. Os primeiros estudos das aplicações do laser na terapêutica datam da década de 60 e apontam efeitos fotobioestimulantes quando aplicados em baixa intensidade (FERREIRA, 2016). LASER é uma sigla de origem inglesa, abreviada de “light amplification by stimulated emission of radiation”, traduzida em “amplificação da luz por emissão estimulada de radiação”. Um LASER é uma fonte de luz monocromática, intensa, coerente e colimada, e é classificado em alta e baixa potência. O laser de alta potência geralmente tem aplicação cirúrgica para cortes e cauterização, enquanto o laser de baixa potência é frequentemente utilizado em processos cicatriciais e de reparação tecidual (PIVA et al., 2011; ANDRADE; CLARK; FERREIRA, 2014; FERREIRA, 2016).

Há décadas estudos observam os efeitos do laser de baixa potência no tratamento de lesões em diversos tecidos, pela capacidade de modulação do processo inflamatório, estímulo na expressão de citocinas e fatores de crescimento, promoção de neovascularização, proliferação celular, síntese e deposição de colágeno. Cada tipo de laser interage de maneiras diferentes em cada tecido, para os efeitos citados, recomendam aplicações com comprimento de onda entre 600 e 1000 nm - faixa do vermelho e infravermelho, com doses entre 3 e 6 J variando a frequência de sessões entre horas a dias. Entretanto, ainda não há padrões estabelecidos a respeito dos parâmetros como cálculo de dose, tempo, frequência e comprimento de onda para cada condição clínica, visto que nem todos os fatores envolvidos na fotobioestimulação estão esclarecidos (ANDRADE; CLARK; FERREIRA, 2014; FERREIRA, 2016).

Acredita-se que, neste caso, a hialuronidase foi eficiente na degradação do AH injetado desbloqueando a oclusão vascular. A associação dos medicamentos antialérgicos como ação preventiva à reação alérgica à hialuronidase foi eficaz e permitiu o desempenho da enzima. Além disso, o laser de baixa intensidade apresentou ótimos resultados na reparação dos danos causados ao tecido pelo processo isquêmico e inflamatório, como observado na Fotografia 4.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tratamento medicamentoso com hialuronidase injetável, antialérgico e antiinflamatório, associado a aplicação de laser de baixa intensidade aplicado neste relato de caso apresentou resultados satisfatórios. Pode-se inferir que ocorreu oclusão da artéria facial e/ou angular por volume de ácido hialurônico reticulado injetado, desenvolvendo o processo isquêmico notado pelos sinais e sintomas apresentados. Conclui-se que a utilização da enzima hialuronidase foi essencial para o restabelecimento do fluxo sanguíneo. A utilização da HYAL deve ser realizada com anamnese detalhada e diagnóstico bem estabelecido para que possa ser prescrita dosagem eficiente e segura, especialmente quando se trata de complicação vascular, em que o atendimento precoce é determinante para os resultados.

Diversos fatores ainda não elucidados estão envolvidos na ação biológica da hialuronidase tanto endógena quanto exógena no organismo humano, assim como os mecanismos inibitórios relacionados ao seu potencial alergênico. A regulamentação da hialuronidase para os fins citados neste artigo, é fundamental para garantir um procedimento mais seguro e de evolução favorável. Ressalta-se a importância de ser estabelecido um protocolo de utilização por profissionais habilitados para tal e difundir o conhecimento sobre a possibilidade de eventos adversos tanto por preenchedores, quanto pela enzima hialuronidase.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. R. T.; SALIBA, A. F. N. Hialuronidase na cosmiatria: o que devemos saber?. **Surg Cosmet Dermatol** 2015, v: 7(3):197-204. DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.20157301>.

ALMEIDA, A. T. et al. Diagnóstico e tratamento dos eventos adversos do ácido hialurônico: recomendações de consenso do painel de especialistas da América Latina. **Surg Cosmet Dermatol** 2017;9(3):204-13. DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.20179302>.

ANDRADE, F. S. S. D.; CLARK, R. M. O.; FERREIRA, M. L. Efeitos da laserterapia de baixa potência na cicatrização de feridas cutâneas. **Rev. Col. Bras. Cir.** 2014; 41(2): 129-133.

CAVALLINI, M. et al. The role of hyaluronidase in the treatment of complications from hyaluronic acid dermal fillers. **Aesthet Surg J.** 2013 Nov 1;33(8):1167-74. doi:

10.1177/1090820X13511970. Epub 2013 Nov 6. PMID: 24197934.

CARPANEDA, E. M.; CARPANEDA, C. A. Enxertos de tecido adiposo em locais pouco habituais. **Rev. Bras. Cir. Plást.**2013;28(3):398-405.

CHEN, F.; GUO, X.; WU, Y. Skin antiaging effects of a multiple mechanisms hyaluronan complex. **Skin Res Technol.** 2023 Jun;29(6):e13350. doi: 10.1111/srt.13350. PMID: 37357659; PMCID: PMC10225814.

COSTA, A. et al. Características reológicas de preenchedores dérmicos à base de ácido hialurônico antes a após passagem através de agulhas. **Surg Cosmet Dermatol** 2013;5(1):88-91.

DAHER, J. C. et al. Complicações vasculares dos preenchimentos faciais com ácido hialurônico: confecção de protocolo de prevenção e tratamento. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**, 2020; 35(1):2-7.

DELORENZI, C. Complications of injectable fillers, part 2: vascular complications. **Aesthet Surg J.** 2014 May 1;34(4):584-600. doi: 10.1177/1090820X14525035. Epub 2014 Apr 1. PMID: 24692598.

FERREIRA, A. G. A. **Aplicação do laser de baixa intensidade no processo de cicatrização de ferida cirúrgica: Padronização dos parâmetros dosimétricos.** 2016. 110 p. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) - Programa De Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, Universidade Federal De Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.

FLYNN, T. C. et al. Comparative histology of intradermal implantation of mono and biphasic hyaluronic acid fillers. **Dermatol Surg.** 2011 May;37(5):637-43. doi: 10.1111/j.1524-4725.2010.01852.x. Epub 2011 Jan 27. PMID: 21272119.

FUNT, D; PAVICIC, T. Dermal fillers in aesthetics: an overview of adverse events and treatment approaches. **Clin Cosmet Investig Dermatol.** 2013; (6):295-316.

GIRISH, K. S.; KEMPARAJU K. The magic glue hyaluronan and its eraser hyaluronidase: a biological overview. **Life Sci.** 2007 May 1;80(21):1921-43. doi: 10.1016/j.lfs.2007.02.037. Epub 2007 Mar 6. PMID: 17408700.

HONG, S. J. et al. Variant facial artery anatomy revisited: Conventional angiography performed in 284 cases. **Medicine (Baltimore).** 2020 Jul 10;99(28):e21048. doi: 10.1097/MD.00000000000021048. PMID: 32664117; PMCID: PMC7360205.

ISOLAN, G. R. et al.. Anatomia microcirúrgica da artéria carótida externa: um estudo estereoscópico. **Jornal Vascular Brasileiro**, 2012; 11(1):03–11. <https://doi.org/10.1590/S1677-54492012000100002>.

KELLER E. C. et al. Use of hyaluronidase in patients with bee allergy. **Dermatol Surg.** 2014 Oct;40(10):1145-7. doi: 10.1097/DSS.000000000000123. PMID: 25207760. DOI: 10.1097/DSS.000000000000123.

LEE H. J. et al. The facial artery: A Comprehensive Anatomical Review. **Clin Anat.**

2018 Jan;31(1):99-108. doi: 10.1002/ca.23007. Epub 2017 Nov 16. PMID: 29086435.

LEE, S. H. et al. Topographic anatomy of the superior labial artery for dermal filler injection. **Plast Reconstr Surg**. 2015 Feb;135(2):445-450. doi: 10.1097/PRS.0000000000000858. PMID: 25626792.

LEHNINGER, T. M. **Princípios de Bioquímica**. 6ª Edição. Porto alegre: Ed. Artmed, 2014.

LIU, L. et al. Microbial production of hyaluronic acid: current state, challenges, and perspectives. **Microb Cell Fact**. 2011 Nov 16;10:99. doi: 10.1186/1475-2859-10-99. PMID: 22088095; PMCID: PMC3239841.

MEUNIER, M. et al. The anti-wrinkles properties of sodium acetylated hyaluronate. **J Cosmet Dermatol**. 2022 Jul;21(7):2749-2762. doi: 10.1111/jocd.14539. Epub 2021 Oct 28. PMID: 34708918; PMCID: PMC9543187.

MURRAY, G. et al. Guideline for the Safe Use of Hyaluronidase in Aesthetic Medicine, Including Modified High-dose Protocol. **J Clin Aesthet Dermatol**. 2021 Aug;14(8):E69-E75. Epub 2021 Aug 1. PMID: 34840662; PMCID: PMC8570661.

NERI, S. R. N. G. et al. Uso de hialuronidase em complicações causadas por ácido hialurônico para volumização da face: relato de caso. São Paulo. **Surg Cosmet Dermatol** 2013;5(4):364 6.

OGRODOWSKI, C. S. **Produção de ácido hialurônico por Streptococcus: estudo da fermentação e caracterização do produto**. 2006. 121 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas, 2006.

OLIVEIRA, M. R. M. **Avaliação das propriedades morfo-fisicoquímicas e biológica de diferentes ácidos hialurônicos (AHS): estudo in vivo e in vitro**. 2017. 98 p. Dissertação (Mestrado em Dentística Restauradora) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araraquara, 2017.

PINAR, Y. A.; BILGE, O.; GOVSA, F. Anatomic study of the blood supply of perioral region. **Clin. Anat**. 2005 Jul;18(5):330-9. doi: 10.1002/ca.20108. PMID: 15971214.  
PIVA, J. A. et al. Ação da terapia com laser de baixa potência nas fases iniciais do reparo tecidual: princípios básicos. **Anais Brasileiros De Dermatologia**, 86(5), 947–954. 2011 <https://doi.org/10.1590/S0365-05962011000500013>.

RENNOVA LIFT. In: RENNOVA. [Goiânia, 2023]. Disponível em: <<https://compre.renova.me/produtos/lift/>>. Acesso em 23 de ago. de 2023.

ROSA, C. S. **Estudo do ácido hialurônico proveniente da crista de frango: extração, purificação, caracterização e atividade antioxidante**. 2008. 106 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

ROCHA, R. C. et al. A importância do uso precoce de hialuronidase no tratamento

de oclusão arterial por preenchimento de ácido hialurônico. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, vol. 10, núm. 1, pp. 77-79, 2018. DOI: 10.5935/scd1984-8773.20181011110.

SUNDARAM, H. et al. Comparison of the rheological properties of viscosity and elasticity in two categories of soft tissue fillers: calcium hydroxylapatite and hyaluronic acid. **Dermatol Surg**. 2010; 36(3): 859-65.

TAMURA, B. M. Topografia facial das áreas de injeção de preenchedores e seus riscos. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, vol. 5, núm. 3, 2013, pp. 234-238.

TEZEL, A.; FREDRICKSON, G. H. The science of hyaluronic acid dermal fillers. *J Cosmet Laser Ther*. 2008 Mar;10(1):35-42. doi: 10.1080/14764170701774901. Erratum in: **J Cosmet Laser Ther**. 2014 Jan;16(1):45. PMID: 18330796.

VOET, D. Açúcares e polissacarídeos. In: **Bioquímica**. 4ª Ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2013. p 371-379.

WOLFE, M. et al. Examining the Role of Retrobulbar Hyaluronidase in Reversing Filler-Induced Blindness: A Systematic Review. **Ophthalmic Plastic and Reconstructive Surgery**. (2019) 36. 1. 10.1097/IOP.0000000000001568.

WU, L. et al. Delayed allergic hypersensitivity to hyaluronidase during the treatment of granulomatous hyaluronic acid reactions. **J Cosmet Dermatol**. 2017;00:1–5. <https://doi.org/10.1111/jocd.12461>.

# INFLUÊNCIAS GENÉTICAS E EPIGENÉTICAS NO TRANSTORNO DEPRESSIVO

## GENETIC AND EPIGENETIC INFLUENCES IN DEPRESSIVE DISORDER

Maria Luísa Januário Lupo  
Carolina Batista Ariza Tamarozzi  
Andressa Megumi Niwa

### RESUMO

A depressão é um dos transtornos que mais afeta a população mundial e seus variados sintomas interferem na vida do indivíduo podendo causar incapacidade significativa. Cerca de 75% dos brasileiros que sofrem com a doença não possuem tratamento adequado. A depressão é causada por fatores genéticos, ambientais, culturais e neurobiológicos. O estresse é um importante fator externo para o desenvolvimento do transtorno, pois causa a metilação do DNA nos genes do receptor glicocorticóide. A exposição a fatores crônicos, como o estresse, pode alterar a estrutura da cromatina em determinados locais genômicos, contribuindo para episódios de depressão. Foi observado que os microRNA podem fazer a desregulação dos genes envolvidos no transtorno, pois níveis diminuídos de microRNA1202 foram encontrados em pacientes que morreram por suicídio. Parentes de primeiro grau de pacientes depressivos possuem cerca de três vezes mais chance de desenvolver o transtorno depressivo. O fator neurotrófico derivado do cérebro, quando hipermetilado, está associado a sintomatologia depressiva. A variação na região promotora do gene transportador da serotonina influencia na depressão em pessoas expostas a eventos estressantes. O tratamento atual é feito com o uso de antidepressivos e há evidências de que fármacos que controlam a metilação da histona H3 ou a metilação do DNA podem ser tão eficazes quanto os medicamentos antidepressivos. Dessa forma, os avanços nos estudos sobre a depressão vêm trazendo informações importantes quanto à etiologia da doença, permitindo melhoria nas formas de tratamento e qualidade de vida para os pacientes. Os estudos comprovam que o transtorno depressivo maior é desenvolvido através de um conjunto de características genéticas, pois envolve genes, assim como epigenéticas devido a presença de metilação e acetilação de proteínas histonas. O objetivo do presente trabalho é contribuir cientificamente evidenciando como a depressão pode ser causada pela genética de cada indivíduo assim como por meios epigenéticos. Feito através de pesquisas bibliográficas com os estudos publicados, preferencialmente, nos últimos dez anos.

**Palavras-chaves:** hereditariedade; diagnóstico; transtorno.

### ABSTRACT

Depression is one of the disorders that most affects the world population and its various symptoms interfere in the life of the individual and can cause significant disability. About 75% of Brazilians who suffer from the disease do not have adequate treatment. Depression is caused by genetic, environmental, cultural and neurobiological factors. Stress is an important external factor for the development of the disorder, as it causes DNA methylation in glucocorticoid receptor genes. Exposure to chronic factors, such

as stress, can alter the structure of chromatin at certain genomic sites, contributing to episodes of depression. It has been observed that microRNAs can dysregulate genes involved in the disorder, as decreased levels of micro-RNA1202 have been found in patients who died by suicide. First-degree relatives of depressive patients are about three times more likely to develop depressive disorder. Brain-derived neurotrophic factor, when hypermethylated, is associated with depressive symptoms. The variation in the promoter region of the serotonin transporter gene influences depression in people exposed to stressful events. Current treatment is with the use of antidepressants and there is evidence that drugs that control histone H3 methylation of DNA methylation can be as effective as antidepressant drugs. Thus, advances in studies on depression have brought important information regarding the etiology of the disease, allowing for improvements in the forms of treatment and quality of life for patients. Studies prove that major depressive disorder is developed through a set of genetic characteristics, as it involves genes, as well as epigenetics due to the presence of methylation and acetylation of histone proteins. The objective of this work is to contribute scientifically by showing how depression can be caused by the genetics of each individual as well as by epigenetic means. Made through bibliographic research with studies published, preferably, in the last ten years.

**Keywords:** heredity; diagnosis; disorder.

## 1 INTRODUÇÃO

A depressão é uma doença crônica generalizada que afeta tanto a saúde física como os pensamentos e o humor (CUI, 2015). O transtorno depressivo maior (TDM) se caracteriza por tristeza permanente, perda de interesse, sentimento de culpa, mudanças no peso, sono, apetite e variações de concentração (PEÑA; NESTLER, 2018).

Por se tratar de uma herança multifatorial, observam-se influências ambientais e genéticas, além de características epigenéticas (PAWLOWSKI, 2019) e, segundo Plomin (2011), genética e ambiente são inseparáveis.

O estudo da genética do comportamento é bastante antigo. Galton, fundador da eugenia, em 1865, apresentou essa ciência que oferecia bases teóricas para compreender mecanismos de transmissão de características entre as gerações, contribuindo para a melhora das características do conjunto populacional (VALDEIR, 2008).

A depressão tornou-se uma doença muito comum e perigosa nos dias de hoje. De acordo com a Pesquisa Nacional de Saúde de 2013, no Brasil, a prevalência do transtorno é de 7,6% em adultos, sendo a maioria mulheres e pessoas entre os 60 e

64 anos, no entanto, a mesma pesquisa no ano de 2019 mostrou aumento para 10,2% (BRITO, 2022). A OMS considera a depressão como um problema de saúde pública, ela é a principal causa de incapacidade em todo mundo (MELO, 2021).

A causa da depressão não pode ser dita como biológica ou externa. É uma junção de fatores ambientais, genéticos, neurobiológicos e culturais (PENÃ; NESTLER, 2018). Cabe-se citar alguns desses fatores como baixo teor de folatos que pode estar associado com casos de depressão, já que o folato estaria associado a síntese e uso dos neurotransmissores monoamina no sistema nervoso central (LOPEZ-MUÑOZ, 2009). Após o experimento com ratos observou-se um aumento de neurotransmissores naqueles tratados com folatos, pois eles impediram a liberação de IL-6, afetando a modulação de HCY, BDNF e beta-EP. (ZHOU, 2020).

Outro fator que se pode citar como causa ambiental que leva ao desenvolvimento da depressão por meios epigenéticos é o estresse (SUN, 2014). Slavich et al (2014) relataram que depressão e estresse estão relacionados.

Estudos com animais mostraram que há uma alteração na acetilação das histonas no cérebro anterior dos roedores quando eles são expostos a situações de estresse (SEO, 2016).

Porém ainda há pouco conhecimento por parte da população, principalmente quanto aos fatores genéticos que podem influenciar no seu desenvolvimento. Estudos feitos com famílias mostraram que o risco de desenvolver a doença quando se tem parentes de primeiro grau com depressão, está aumentado cerca de três vezes (LIMA, 2015).

As técnicas de genética molecular ainda não conseguem esclarecer os modos complexos de herança (PLOMIN, 2011). Contudo, a epigenética é tão importante quanto a genética e o ambiente no desenvolvimento da depressão (CHEN, 2017).

Quanto ao diagnóstico, a depressão é detectada por meio de avaliação psicológica, física, social e global (MENDES, 2014). Pesquisas mostraram que entre 50% e 60% dos pacientes depressivos não são detectados ou tratados adequadamente, mostrando uma deficiência no diagnóstico e no tratamento da depressão (MOLINA, 2012). A falta de um diagnóstico preciso influencia os índices de recorrência e leva ao tratamento inadequado dos pacientes (CARNEIRO, 2016). Dessa forma, existe a necessidade de esclarecer suas causas e os principais sintomas

para que o paciente possa buscar um tratamento precoce que permita uma maior eficácia.

Atualmente, o transtorno depressivo é tratado através de medicamentos e intervenções psicossociais (GONSALVES, 2017). Segundo Carneiro (2016), a terapia cognitiva-comportamental apresenta eficácia na diminuição dos sintomas e na prevenção de recaídas no tratamento da depressão leve e moderada.

Os atuais medicamentos contra a doença são baseados na descoberta de substâncias que aumentam o humor (LOPEZ-MUÑOZ, 2009). A estagnação farmacológica para a depressão aponta para uma alta demanda de novas opções de tratamento (WOHLEB, 2016).

Em vista da escassez de informação sobre a doença perante a população e relevância de sua abordagem devido ao grande número de pessoas com depressão no mundo, o presente estudo visa contribuir para a ciência de forma a esclarecer como a influência genética e da epigenética, assim como o ambiente, condicionam no desenvolvimento do transtorno depressivo. Esclarecimentos são necessários já que ainda há um grande preconceito presente na sociedade atual, visto que em poucos casos a depressão é tratada com seriedade por parte da sociedade, isso se deve ao desconhecimento em relação à doença (ZANONATO, 2021). Também serão abordados os tratamentos mais atuais para esse transtorno a fim de trazer os melhores benefícios e qualidade de vida aos pacientes.

## **2 METODOLOGIA**

O presente estudo foi realizado através de uma pesquisa bibliográfica de caráter exploratório e qualitativo contendo dados, conceitos e técnicas retirados de artigos científicos, teses e dissertações sobre o tema em bibliotecas, sites e plataformas online como o SciELO, PubMed e o Google Acadêmico. A fim de obter um trabalho com temas mais atuais, foram utilizados trabalhos publicados, preferencialmente, nos últimos dez anos (2012 a 2022). As buscas ocorreram pela seleção das palavras-chave e pela restrição do período das publicações. Em seguida, foram realizadas as leituras, fichamentos e resenhas dos artigos, os quais serviram de embasamento teórico para a construção do trabalho final.

## 3 TRANSTORNO DEPRESSIVO E SUAS CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS E EPIGENÉTICAS

### 3.1 Depressão

A depressão é uma das síndromes mais prevalentes na população, levando a mudanças significativas na produtividade e qualidade de vida dos indivíduos. Ela afeta pessoas em variadas fases da vida e em qualquer idade, com gravidade variável (RUFINO, 2018). A depressão é um transtorno que provoca alterações corporais, mentais e distúrbios do humor. Seus sintomas podem durar semanas, meses ou se prolongar por anos, interferindo na vida do indivíduo (JARDIM, 2011).

30

#### 3.1.2 Sintomas

De acordo com o DSM-IV, é considerado um episódio depressivo maior quando a presença de humor depressivo ocorre há mais de duas semanas, ou quando aparecem pelo menos quatro dos sinais ou sintomas a seguir: perda de peso ou aumento no apetite, hipersonia ou insônia, lentificação ou agitação psicomotoras, sentimento de desvalorização ou culpa desproporcional. Esse conjunto de sintomas precisa causar incapacidade significativa, estar presente quase todos os dias, excluindo-se também doenças secundárias ou sintomas decorrentes ao uso de fármacos (LAGE, 2010).

A depressão é uma síndrome que se caracteriza por sintomas emocionais e físicos que alteram a capacidade do paciente em realizar suas atividades cotidianas. Dentre os sintomas observam-se alterações no humor, sensação de vazio, agitação e/ou lentidão, crises de choro, perda ou ganho de peso e isolamento social (ISTILLI, 2010).

#### 3.1.3 Dados epidemiológicos

O transtorno depressivo é considerado como causa incapacitante no mundo, afetando quase 350 milhões de pessoas (World Health Organization, 2014).

O risco de se desenvolver depressão ao longo da vida é de 15-18%, isso indica

que 1 em cada 5 pessoas experimentará um episódio depressivo na vida (BROMET, 2011).

A Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2001, revelou que mais de 120 milhões de indivíduos no mundo sofrem de depressão, a maior parte dos casos ocorrem em países que ainda estão em desenvolvimento. Dos 17 milhões de brasileiros que sofrem com a doença, 75% não possuem tratamento adequado e mulheres são as mais acometidas pela depressão. A depressão está associada a 850 mil casos de suicídios nas idades entre 15 e 44 anos (FEITOSA, 2011).

A prevalência de depressão em mulheres é de 45%, isso se deve ao excesso de responsabilidade, além de fatores hormonais, uso de anticoncepcional, menopausa, gestação, abortos e período pré-menstrual (FEITOSA, 2011).

Acontece mais em indivíduos de baixa renda e menor grau de escolaridade. Também está bastante presente em viúvas, separadas e divorciadas (DUARTE, 2010).

### **3.2 Classificação das depressões**

A CID-10 traz o transtorno de humor e os episódios depressivos são identificados em F32 e F33, sendo F32 um episódio depressivo único e F33 um episódio depressivo recorrente. O transtorno depressivo pode ser leve, moderado ou grave. O DSM-IV classifica os transtornos depressivos em transtorno depressivo maior, podendo ser único ou recorrente e transtorno depressivo sem outra especificação (DEL PORTO, 1999).

### **3.3 Causas**

A causa da depressão não pode ser dita como biológica ou externa, e sim um conjunto de fatores ambientais, genéticos, neurobiológicos e culturais (PEÑA, 2018). Kendler, em 1994, disse que o TDM exibe um dos menores valores de herdabilidade de todos os transtornos psiquiátricos, sugerindo, portanto, que existam papéis ambientais no desencadeamento da doença.

### 3.3.1 Estresse

Apesar de um subgrupo de pacientes parecerem vulneráveis à depressão devido aos fatores estressantes da vida, outro grupo parece ser bem resistente, o que reflete que a depressão pode estar relacionada a fatores biológicos (ANDERSEN, 2008).

Traumas de infância indicam uma vulnerabilidade para o desenvolvimento da depressão durante a vida adulta quando os pacientes passam por episódios de estresse. Esses estudos identificaram mecanismos epigenéticos puros e interações gene-ambiente (MUTESA, 2018). A exposição a fatores estressantes na infância leva à metilação do DNA em locais do gene do receptor de glicocorticoides, reduzindo sua expressão, causando mudanças no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) (ENTRINGER, 2015). Alterações no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal levam à hipercortisolemia que está associada à depressão (ALHEIRA, 2005). A hipercortisolemia e o aumento na concentração de corticotropina no líquido cefalorraquidiano em pacientes depressivos comprovam que há uma desregulação no *feedback* negativo realizado pelo cortisol endógeno (ZOBEL, 2000).

### 3.3.2 Ácido fólico

O folato como auxílio nutricional recebeu muita atenção no tratamento da depressão (BENDER, 2017). O baixo nível de folato está associado com pacientes depressivos, apresentando menor probabilidade de responder ao tratamento, pior desenvolvimento cognitivo e têm maior probabilidade de recaída (MARTINEZ, 2017).

Em um ensaio clínico randomizado, observou-se que a suplementação diária com ácido fólico associado a vitaminas B6 e B12 em altas doses não poderiam reduzir o risco de depressão em mulheres de meia idade (OKEREKE, 2015). Entretanto, vários estudos com ratos mostraram que a suplementação com ácido fólico sozinho ou combinado a zinco exerce efeitos antidepressivos significativos (REUS, 2018).

O folato está ligado à produção de neurotransmissores como a serotonina (5-HT), a norepinefrina (NE) e a dopamina (DA). Os níveis de BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro) são marcadores importantes para a resposta clínica ou para a melhora no tratamento da depressão (MASSART, 2012).

Zhou (2020) estabeleceu um modelo de depressão por meio de estresse crônico imprevisível em ratos e observou efeitos antidepressivos quando administrado o ácido fólico, a partir da dosagem dos níveis de neurotransmissores monoamina e BDNF no soro e no tecido cerebral dos animais. Ele concluiu com esse estudo que o tratamento com 0,8 mg/Kg de ácido fólico tem comportamento semelhante aos antidepressivos nos ratos expostos ao estresse crônico, o ácido fólico levou a maiores níveis de DA e NE e afetou a modulação do BDNF.

### 3.4 Epigenética

A epigenética é tão importante quanto a genética e o ambiente no desenvolvimento da depressão (CHEN, 2017). Porém, diferente da genética, se o fenótipo é epigenético ele pode ser desfeito (RENZI, 2018).

O epigenoma é suscetível a fatores externos, podendo levar a alterações de longo prazo (RENZI, 2018). Até então, neurotransmissores eram o foco como causa da depressão, porém, foi comprovado que mecanismos epigenéticos podem ser a causa da desordem (PEEDICAYIL, 2018).

Atualmente, existe a hipótese de que a epigenética é um mecanismo chave pelo qual exposições ambientais interagem com a formação genética de um indivíduo para determinar o seu risco de depressão ao longo da vida. Conforme essa hipótese, o estresse crônico desencadeia, em indivíduos suscetíveis, mudanças na estrutura da cromatina em determinados locais genômicos não regiões límbicas. Isso contribui para episódios de depressão (SUN, 2014).

#### 3.4.1 Acetilação de histonas

A acetilação da histona medeia a abertura da cromatina, geralmente induzindo a ativação do gene, enquanto a desacetilação da histona fecha a cromatina reprimindo o gene. A metilação do DNA de promotores medeia o recrutamento de proteínas de ligação de metilação para reprimir a expressão do gene, enquanto a metilação de sítios repressores pode reduzir a ativação ou repressão do gene (ADACHI, 2002).

A acetilação das histonas está associada à ativação transcricional, esse processo é controlado pelas histonas acetiltransferases (HATs) e histonas

desacetiltransferases (HDACs) (PENNER-GOEKE, 2019).

Essas modificações epigenéticas também podem ocorrer no início da vida e ajudam a determinar a susceptibilidade de um indivíduo durante a vida a frente de eventos estressantes (SUN, 2014).

A exposição de roedores a formas de estresse altera a estrutura da cromatina no cérebro. A modificação pode ser global quando altera os níveis totais de histonas acetiladas ou metiladas em regiões específicas do cérebro límbico. Ou ela pode ser em um local específico, ou seja, uma modificação nas histonas (metilação ou acetilação) de um determinado gene (VIALOU, 2013).

Sob o estresse social crônico, camundongos suscetíveis manifestaram uma síndrome parecida com a depressão, enquanto camundongos resilientes evitaram a maioria desses sintomas mesmo sendo expostos ao mesmo tipo de estresse. Essa susceptibilidade é controlada, em parte, por mudanças na acetilação das histonas (COVINGTON, 2011).

Filhotes de ratos criados com cuidados maternos mostraram aumento na atividade de 5-HT, levando à redução da reatividade ao estresse na idade adulta (HELLSTROM, 2012). Essa mudança comportamental envolve a expressão reduzida de receptores de glicocorticóides no hipocampo devido à metilação do DNA em um local específico do gene (WEAVER, 2004). Em humanos, o abuso no início da vida está associado ao aumento da metilação neste mesmo local do cérebro (TURECKI, 2001).

Metilação de 24 locais CpG no camundongo no promotor Htr1a foi quantificado após estresse crônico imprevisível por 9 semanas em camundongos Balb/c machos. Camundongos estressados mostraram aumento da metilação do DNA de um único local localizado dentro de um único elemento Sp4 do gene Htr1 que se correlacionou com o aumento de 5-HT1A (LE FRANÇOIS, 2015).

A acetilação global da histona 3 na lisina 14 (H3K14ac) foi aumentada no núcleo accumbens (NAc) do tecido *post mortem* dos pacientes com TDM. Uma regulação negativa de HDAC2 foi observada nesses pacientes (COVINGTON, 2015).

Além disso, estudos mostraram que existe concordância entre a metilação de DNA encontrada no sangue com a do cérebro (RUTTEN, 2018).

### 3.4.2 MicroRNAs

MicroRNAs podem ter um papel na doença por meio da desregulação de genes envolvidos neste processo, pois estudos mostram níveis alterados de 178 miRNAs específicos em pacientes com transtornos psiquiátricos, inclusive TDM (YUAN, 2018).

Níveis de miRNA1202 no córtex pré-frontal de pacientes com TDM que morreram por suicídio foram mais baixos do que os controles psiquiatricamente saudáveis (LOPEZ, 2018).

Outros estudos mostraram níveis alterados de miRNAs em cérebros de pacientes pós morte e tecidos periféricos e, após o tratamento com medicação antidepressiva, se observou melhora nesses níveis (LOPEZ, 2018).

Klengel, em 2013, identificou uma interação entre uma variante (rs1360780) localizada no gene da proteína 5 de ligação *FK506 (FKBP5)* e traumas infantis na metilação da *FKBP5* no sangue periférico. O *FKBP5* é um regulador do eixo HPA e está envolvido na resposta ao estresse. O alelo rs1360780 resulta na ativação transcricional do *FKBP5*, a superexpressão do regulador resulta na interrupção prejudicada da resposta ao estresse.

Alterações nos mecanismos do gene *5HT1A* combinam-se para alterar a expressão de proteínas e podem ser influenciadas pelo genótipo através dos polimorfismos e UTR, e pelo estresse/ambiente (LOPEZ, 2018). Evidências mostram que, em alguns casos, o miRNA sanguíneo pode ser usado como marcador para depressão maior e reflete mudanças de miRNA no cérebro (LOPEZ, 2018).

Os mecanismos pós-transcricionais, incluindo as proteínas de ligação ao RNA, que visam a região 3' não traduzida (UTR), podem alterar a estabilidade do RNA para influenciar na expressão gênica e neurodesenvolvimento (DWIVEDI, 2018). A regulação da estabilidade do RNA por microRNA tem sido implicada na depressão maior (LOPEZ, 2018). O microRNA16 inibe a expressão do 5HTT in vitro em linhagens humanas, de camundongos e de ratos (VETENCOURT, 2011).

## 3.5 Genética da depressão

A depressão é uma doença herdável. Sua taxa de transmissão é de 35-40% (PENÃ, 2018).

O transtorno é comedido hereditário, isso é comprovado através de estudos com gêmeos e pessoas adotadas (FLINT, 2014). De acordo com Kendler (1994), gêmeos que apresentaram a taxa de concordância para depressão é duas vezes maior em gêmeos monozigóticos (MZ) do que em dizigóticos (DZ). Levando à conclusão de que fatores genéticos são realmente importantes para explicar transtornos depressivos. Entretanto, estudos feitos com gêmeos monozigóticos ainda sofrem muitas críticas devido ao fato de ser uma parcela baixa na população, além de apresentarem desenvolvimentos diferentes e individuais ao longo da vida (LIMA, 2015).

Parentes de primeiro grau de pacientes com depressão têm risco de desenvolver o transtorno depressivo em uma taxa três vezes maior quando comparado a aqueles que não possuem parentes depressivos (LAFER, 1999).

Polderman (2015) disse que estudos com gêmeos permitiram determinar a herdabilidade de características complexas e evoluíram para auxiliar na busca por biomarcadores da doença.

### **3.6 Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro**

O BDNF participa do grupo das neurotrofinas (KADER, 2018) e suas variações genéticas estão associadas tanto com a causa da depressão quanto com a resposta aos tratamentos antidepressivos (RENZI, 2018). Seus níveis no soro e no plasma estão altamente relacionados com os do líquido cefalorraquidiano e cérebro (KNORR, 2017).

Peng, em 2018, disse que a metilação do BDNF está associada à sintomatologia depressiva.

A hipermetilação do promotor do gene do BDNF pode levar a uma expressão reduzida da proteína que leva o mesmo nome, logo, baixos níveis da mesma (PEEDICAYIL, 2018). Estudos mostraram que baixos níveis de BDNF causados por estresse podem levar à depressão (CHEN, 2017).

O pró-peptídeo BDNF é um subproduto formado do precursor do BDNF via processamento proteolítico. Relatórios demonstraram que o pró-peptídeo aumenta a depressão sináptica no hipocampo (KOJIMA, 2019) e promove a retração de espinhos dendríticos em neurônios do mesmo (GUO, 2016).

Mais tarde foi evidenciado que os níveis do pró-peptídeo BDNF estão diminuídos no líquor em pacientes masculinos que possuem o transtorno depressivo maior, indicando que os níveis de pró-peptídeo do BDNF estão associados a esta doença (KOJIMA, 2019).

O BDNF é sintetizado como precursor pré-pró proteína no retículo endoplasmático e contém uma sequência de sinal com 18 aminoácidos, um pró-domínio com 112 aminoácidos e o peptídeo BDNF maduro com 1190 aminoácidos (LEIBROCK, 1989).

O pró domínio BDNF age como uma chaperona molecular que ajuda no dobramento da proteína BDNF (KOLBECK, 1994). Em 2003, foi mostrado que o polimorfismo Val66Met, onde a valina é substituída por uma metionina no pró domínio do BDNF, afeta as funções cerebrais e a secreção dependente da atividade de BDNF (EGAN, 2003). A variante Val66Met do gene está associada à disposição genética a distúrbios cerebrais (TSAI, 2018). Foi comprovado através de um estudo com camundongos, que possuíam a mutação Val66Met, que existe ligação entre a mutação Val66Met e as funções cerebrais (CHEN, 2017). Estudos de microscopia eletrônica e imunocitoquímica detectaram sinais do BDNF e do seu pró-domínio em vesículas nos terminais sinápticos excitatórios do hipocampo de camundongos adultos, sugerindo que esse pró-domínio é libertado de uma forma dependente da vesícula intracelular (KOJIMA, 2016).

Esses estudos levantam as seguintes hipóteses: (1) o pró-domínio do BDNF pode exercer funções diferentes além de atuar como uma chaperona molecular para auxiliar no dobramento do BDNF (KOLBECK, 1994), (2) os mecanismos pós-tradução podem mediar ações para fatores neurotróficos como o BDNF (KOJIMA, 2016).

Um estudo eletrofisiológico com fatias do hipocampo descobriu que o pró-peptídeo BDNF pode melhorar o hipocampo, isso mostra que o pró-peptídeo BDNF é um facilitador da depressão hipocampal e regula o mecanismo para promover a depressão sináptica (KOJIMA, 2019).

O polimorfismo Val66Met BDNF aumenta as chances de distúrbios cerebrais e influencia as ações cerebrais (TSAI, 2018). As fatias do hipocampo de camundongos com a mutação possuem defeitos na plasticidade dependente do receptor Nmetil-D-aspartato (NINAN, 2010). Foi mostrado também que o pró-peptídeo contendo o

polimorfismo resgatou hipocampo depressivo (KOJIMA, 2016).

Dessa forma, os níveis de BDNF no sangue podem ser biomarcadores importantes para a depressão (TSAI, 2018). Porém, ainda não está claro se suas quantidades no sangue refletem a do cérebro, visto que ele é produzido pelo parênquima cerebral e reflete diretamente a atividade cerebral, podendo ser detectado no líquido cefalorraquidiano através de Western blotting (SLAVIK, 2012).

Os níveis do pró-peptídeo BDNF é menor em homens, mas não em mulheres com TDM quando comparado aos controles do mesmo sexo, indicando que o gênero está associado à redução no nível de peptídeo (CYRANOWSKI, 2000). As mulheres amenorreicas possuem níveis de BDNF mais baixos do que as mulheres férteis (BEGLIUOMINI, 2007).

Os níveis de pró-peptídeo do BDNF podem refletir a função prejudicada do BDNF no cérebro de pacientes com transtorno depressivo maior e podem, portanto, ser bons marcadores biológicos de distúrbios psiquiátricos (CASTREN, 2017).

Baixos níveis de pró-peptídeo de BDNF no líquido podem mostrar a menor atividade neuronal no cérebro depressivo (CASTREN, 2017).

### **3.7 Polimorfismo 5HTTLPR**

O sistema serotoninérgico está associado a resposta como o apetite, sono, ansiedade e humor. O transportador de serotonina (5-HTT) tem papel fundamental no ajuste fino da função biológica da serotonina. Ele é codificado pelo gene *SLC6A4*, localizado no cromossomo 17q12 (ROCHA, 2014). Polimorfismos de 43 pares de bases foram identificados na região 5', acima da sequência codificadora, na região de controle da transcrição gênica, e determinam diferenças na eficiência da transcrição. A variante com alelo longo (5-HTTLPR) está associada a maiores níveis de mRNA do transportador de serotonina em comparação com o alelo curtos (ITO, 2003).

Caspi et al (2003) descobriram que os sintomas depressivos atualmente estão associados a ter uma ou duas cópias do alelo s, porém, apenas em vidas estressantes. Kendler, 2005, conseguiu replicar parcialmente esse achado, mostrando que indivíduos com dois alelos s possuem risco aumentado de depressão, também no contexto de vida estressante.

A variação na região promotora do gene transportador da serotonina influencia

na depressão em pessoas expostas a eventos estressantes. Alelos com deleção são codificados como s para a forma curta e como l para a forma longa quando se tem a inserção. Os indivíduos podem possuir os genótipos ss, sl e ll (CONTRERAS, 2008).

Foi relatado que o alelo s afeta a expressão do gene *SLC6A4*, causando a diminuição da proteína transportadora de serotonina (5-HTT) (GLATZ, 2003). Hrannilovic, 2004, mostrou que indivíduos com uma ou duas cópias do alelo tinham expressão reduzida em até 30% da proteína 5-HTT.

Pacientes com genótipo SS apresentaram maiores sintomas de depressão e sentimento de culpa do que pacientes com o alelo LL (GOLIMBET, 2003).

De acordo com o experimento de Contreras et al, em 2010, de 260 indivíduos estudados, 60% tinham tido pelo menos um episódio de depressão durante a vida. Aqueles que possuíam o genótipo SS ou SL tinham 2,07 vezes mais chances de terem depressão durante a vida. Concluindo assim que o genótipo homocigoto recessivo ou heterocigoto no locus polimórfico promotor 5-HTTPR aumenta o risco de os indivíduos desenvolverem depressão maior ao longo da vida.

A moderação ocorrida após estresse precoce gera alterações no comportamento e no desenvolvimento cerebral em um período de maior susceptibilidade a esses estressores, o que aumentaria o risco de exposição a novos estressores ao longo da vida (KIELING, 2021).

### 3.8 Diagnóstico

Seu diagnóstico é embasado em mudanças de humor definidas por tristeza ou irritabilidade, acompanhada por mudanças psicológicas como distúrbios do sono, perda da capacidade de sentir prazer em atividades diárias e pensamentos de morte. Isso deve persistir por duas semanas e interferir no trabalho e vida pessoal (PEEDICAYIL, 2018).

Nenhum sintoma é característico da doença e podem aparecer em outras doenças psiquiátricas. A depressão é definida pelos sintomas que formam uma síndrome e causam prejuízo funcional (MALHI, 2013).

Tanto a DSM quanto a CID são usadas para diagnosticar o transtorno depressivo maior, porém para a pesquisa o DSM é o sistema classificatório que predomina (REYNOLDS, 2016).

O diagnóstico de transtorno depressivo maior pode ser obtido após um episódio depressivo diário com duração de duas semanas ou mais com a presença de humor deprimido ou anedonia. Se esses episódios não se resolverem, ele é classificado como depressão crônica. Se estiverem presentes por 2 anos, sem nenhuma remissão acima de 2 meses, a condição é denominada distímia (FRITZ, 2017).

Deve-se considerar os diagnósticos emergentes, pois alguns sintomas depressivos como diminuição da concentração e agitação psicomotora são semelhantes aos da mania (GRANDE, 2018).

A ansiedade pode se manifestar tanto como comorbidade quanto como característica do transtorno depressivo maior. Os sintomas de ansiedade costumam aparecer um ou dois anos antes do início da depressão maior (GASPERSZ, 2018).

Um dos problemas associados ao diagnóstico é a falta do tratamento adequado, levando a altos índices de recorrência e taxas de suicídio, que correspondem a cerca de 60% dos casos de depressão (World Health Organization, 2014).

### **3.9 Tratamento**

O tratamento farmacológico é o principal para episódios atuais, porém eles não protegem o paciente de recaídas ou reincidências (SIDNEY, 2016). A duração dos episódios com o tratamento é de 3 a 6 meses e os pacientes, em sua maioria, se recuperam dentro de 12 meses (KELLER, 1997). Com os tratamentos atuais, a probabilidade de recorrência da doença é alta, comprovado pelos mais de 80% de pacientes que já tiveram mais de um episódio depressivo na vida (PENNINX, 2011).

Durante a depressão, ocorre uma diminuição de neurotransmissores como serotonina, dopamina e noradrenalina que são responsáveis pela regulação do humor, e os antidepressivos convencionais atuam nesses neurotransmissores (AGUIAR, 2011).

Os antidepressivos podem ser usados para o tratamento de transtornos ansiosos indicando que há uma mistura entre os sintomas ansiosos e depressivos que refletem em fatores psicológicos adicionais pertencentes a cada personalidade de um indivíduo (GOLDBERG, 2005).

O objetivo do tratamento é o controle completo dos sintomas, que pode ser

alcançado através de terapia psicológica e farmacoterapia (SEETAL, 2015). Em casos leves de depressão, o tratamento psicológico pode ser suficiente, porém, na grande maioria das vezes a medicação se faz necessária. Em casos de transtornos de depressão maior a medicação é considerada o tratamento de primeira linha (MALHI, 2018).

A farmacoterapia para o transtorno depressivo maior é baseada no aumento da neurotransmissão monoaminérgica (HEALY, 2000). A maioria desses fármacos produzem efeitos iniciais nas sinapses, impactando a sinalização celular e as vias de segundo mensageiro (WILLNER, 2013). Estas vias levam a mudanças na expressão gênica, neurogênese e plasticidade sináptica resultando em benefícios terapêuticos (ZHOU, 2004).

Atualmente, os medicamentos mais eficazes, porém, menos usados, são os tricíclicos e os inibidores de monoamina oxidase (UNDURRAGA, 2012). Estes foram substituídos por medicamentos com menos efeitos colaterais (PERRETI, 2007).

Algumas drogas são metabolizadas rapidamente e precisam ser administradas em doses maiores para atingir a concentração plasmática necessária (CIPRIANI, 2018). Esse é o caso de medicamentos que possuem uma ampla gama terapêutica, como a venlafaxina (KHAN, 1998).

Pode-se fazer a adição de um medicamento que potencialize os efeitos antidepressivos do medicamento já utilizado, como é o caso do lítio (BAUER, 2009). Uma vez que ele produziu uma resposta terapêutica, a combinação precisa ser mantida, pois a retirada de um dos fármacos pode levar a uma recaída (FERNANDES, 2016).

Além do tratamento farmacológico, é fundamental a psicoterapia, que leva o paciente a reconhecer, compreender e analisar as causas que geram conflitos, buscando a melhora de suas relações (FEITOSA, 2011).

A não resposta ao tratamento indica um diagnóstico errado e deve-se ser feita uma reavaliação usando estratégias para tentar tratamentos mais sofisticados (BAUER, 2009).

Há evidências que mostram que fármacos que controlam a metilação da histona H3 ou a metilação do DNA podem ser igualmente eficazes a medicamentos antidepressivos que atuam em transportadores e em receptores de monoamina

(HUNTER, 2009).

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Essa pesquisa propôs, com o objetivo final, mostrar a relevância da genética e da epigenética no transtorno depressivo maior, por meio de uma revisão bibliográfica. Considerou-se que muitos estudos comprovaram que a depressão maior possui características genéticas, pois envolvem genes, e epigenéticas porque se apresentaram modificações na estrutura no DNA sem alterar sua sequência, acarretando assim a doença.

No decorrer dessa pesquisa, foi possível compreender o que é a depressão, seus tipos, formas de diagnósticos e tratamentos atuais. Contudo, não foi encontrado nenhum estudo que considerasse a tecnologia do DNA recombinante como tratamento alternativo. De qualquer forma, novos estudos poderão ser realizados e assim se descobrir novos tratamentos a partir das informações já existentes a respeito da causa da doença.

#### REFERÊNCIAS

ADACHI, J. BONO, H. Analysis of the mouse transcriptome based on functional annotation of 60,770 full-length cDNAs. **Nature**, London. 2002.

AGUIAR, C. C et al. Drogas antidepressivas. **Acta Médica Portuguesa**. Portugal. 2011.

ALHEIRA, Flávio. BRASIL, Marco. O papel dos glicocorticóides na expressão dos sintomas de humor: uma revisão. **Rev. Psiquiátrica**. Rio Grande do Sul. 2005.

ANDERSEN, S. L. TEICHER, M. H. Stress, sensitive periods and maturational events in adolescent depression. **Trends in Neurosciences**. 2008.

BAUER, Michael. VERSIANI, Márcio. **Diretrizes da World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) para tratamento biológico de transtornos depressivos unipolares, 1ª parte: tratamento agudo e de continuação do transtorno depressivo maior**. 2009.

BGLIUOMINI, S. CASAROSA, E. Influence of endogenous and exogenous sex hormones on plasma brainderived neurotrophic factor. **Hum Reprod**. 2007.

BENDER, Ansley. HAGAN, Kelsey. The association of folate and depression: A meta-analysis. **J Psychiatr Res**. 2017.

BRITO, Valéria. STOPA, Sheila et al. **Prevalência de depressão autorreferida no Brasil: Pesquisa Nacional de Saúde 2019 e 2013. Epidemiologia e Serviços de Saúde.** 2022.

BROMET E. ANDRADE LH et al. Epidemiologia transnacional do episódio depressivo maior do DSM-IV. **BMC Med.** 2011; 9: 90.

CARNEIRO, Adriana Munhoz; DOBSON Keith S. Tratamento cognitivo-comportamental para depressão maior: uma revisão narrativa. **Rev. Bras. De Terapias Cognitivas.** 2016.

CASPI, Avshalom et al. Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. **Science**, 301. 2003.

CASTREN, E. KOJIMA, M. Brain-derived neurotrophic factor in mood disorders and antidepressant treatments. **Neurobiol Dis.** 2017.

CHEN, Dongmei; MENG, Lin; PEI, Fei; Zheng, Yang; LENG, Jiyan. A review of DNA methylation in depression. **Journal of Clinical Neuroscience**, 2017.

CIPRIANI, Andrea. Comparative efficacy and acceptability of 21 antidepressant drugs for the acute treatment of adults with major depressive disorder: a systematic review and network meta-analysis. **The Lancet.** 2018.

CONTRERAS, Javier. Association of Serotonin Transporter Promoter Gene Polymorphism (5-HTTLPR) With Depression in Costa Rican Schizophrenic Patients. **J. Neurogenetics.** 2010.

COVINGTON, HE III et al. Um papel para a histonemetilação repressiva na vulnerabilidade induzida pela cocaína ao estresse. **Neuron.** 2011.

CUI, Ranji. **Uma revisão sistemática da depressão.** 2015.

CYRANOWSKI, JM. FRANK, E. Adolescent onset of the gender difference in lifetime rates of major depression: a theoretical model. **Arch Gen Psychiatry.** 2000.

DEL PORTO, José Alberto. Depressão: Conceito e diagnóstico. **Rev. Bras. Psiquiatria.** Vol. 21. Maio. 1999.

DUARTE, D.V.T. Impacto social da depressão e suas repercussões no trabalho. **Rev. Eficaz.** Maringá. 2010.

DWIVEDI, Y. MicroRNAs in depression and suicide: recent insights and future perspectives. **J Affect Disord.** 2018.

EGAN, MF. KOJIMA, M. **The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function.** 2003.

ENTRIGER, Kumsta. Sex specific associations between common glucocorticoid receptor gene variants and hypothalamus—pituitary—adrenal axis responses to psychosocial stress. **Biol Psychiatry** 2015.

FEITOSA, Michelle. MACHADO, Eleuza. Depressão: Família e seu papel no tratamento do paciente. **Revista de psicologia**, Brasília, v. 14, n. 21, 2011.

FERNANDES, Brisa. MALHI, Gin. *N*-Acetylcysteine in Depressive Symptoms and Functionality: A Systematic Review and Meta-Analysis. **The Journal of Clinical Psychiatry**. 2016.

FLINT, J. KENDLER, K.S. The genetics of major depression. **Neuron**, 2014.

FRITZ, Kristina. **Is a delay in the diagnosis of depression disorder inevitable?** 2017.

GASPERSZ, Roxanne. PENNINX, Brenda. **Patients with anxious depression: overview of prevalence, pathophysiology and impact on course and treatment outcome.** 2018.

GLATZ, K. **A expressão do transportador de serotonina humano (5-HTT) regulado por glicocorticóides é modulada pela região polimórfica ligada ao promotor do gene 5-HTT.** 2003.

GOLDBERG, Joseph. Benefits and limitations of antidepressants and traditional mood stabilizers for treatment of bipolar depression. **Bipolar Disorders**. 2005.

GOLIMBET, V. **Serotonin transporter polymorphism and depressive-related symptoms in schizophrenia.** 2003.

GONSALVES, A.M.C. et al. Prevalência da depressão e fatores associados em mulheres atendidas pela Estratégia de Saúde da Família. **J Bras Psiquiatr**. v. 67, n. 2, p.101-9, 2018.

GRANDE, Iria. VIETA, Eduardo. Bipolar disorders. **Nature**. 2018.

GUO, J. DING. BDNF pro-peptide regulates dendritic spines via caspase-3. **Cell Death Dis**. 2016.

HEALY, David. The Case for an Individual Approach to the Treatment of Depression. **The Journal of Clinical Psychiatry**. 2000.

HELLSTROM I. C. Maternal licking regulates hippocampal glucocorticoid receptor transcription through a thyroid hormone—serotonin—NGFI-A signalling cascade. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**. 2012.

HUNTER, RG. MCCARTHY, K. Regulação da metilação da histona H3 hipocampal por estresse agudo e crônico. **Proc Natl Acad Sci US A.**, 106 (49): 20912-20917, 2009.

JARDIM, S. Depressão e trabalho: ruptura de laço social. **Rev. Bras de Saúde Ocupacional**. São Paulo. 2011.

ISTILLI, P. T. et al. Antidepressivos: uso e conhecimento entre estudantes de enfermagem. **Rev. Latino America de Enfermagem**. São Paulo. 2010.

ITO, H et al. Monoamine oxidase polymorphisms and smoking behaviour on Japanese. **Pharmacogenetics**. 2003.

KADER, F.; GHAI, M.; MAHARAJ, L. The effects of DNA methylation on human psychology. **Behavioural Brain Research**, v. 346, p. 47-65, 2018.

KELLER, Martin. **Double depression**: A distinctive subtype of unipolar depression. Elsevier. 1997.

KENDLER. K. S., et al. The clinical characteristics of major depression as indices of the familiar risk to illness. **British Journal of Psychiatry**, 165, 66-72. 1994.

KHAN, Um. The use of venlafaxine in the treatment of major depression and major depression associated with anxiety: a dose-response study. Venlafaxine Investigator Study Group. **J Clin Psychopharmacology**. 1998.

KIELING, Christian. Fisher, Helen. A systematic review of the association between biological markers and environmental stress risk factors for adolescent depression. Elsevier. 2021.

KLENGEL, Torsten. Allele-specific *FKBP5* DNA demethylation mediates gene-childhood trauma interactions. **Nat. Neurosci**. 2013.

KNORR, U et al. Increased blood BDNF in healthy individuals with a family history of depression. **Psychiatry Research**, v. 256, p. 176-179, 2017.

KOJIMA, Massami. MIZUI, T. **BDNF Propeptide**: A Novel Modulator of Synaptic Plasticity. Elsevier. 2016.

KOJIMA, Massami. MIZUI, T. **BDNF pró-peptídeo**: mecanismos fisiológicos e implicações para a depressão. 2019.

KOLBECK, R. **Expression and binding characteristics of the BDNF receptor chick trkB**. 1994.

LAFER, Beny. Genética e fisiopatologia de transtornos depressivos. **Braz. J. Psychiatry**. 1999.

LAGE, Jorge. **Neurobiologia da depressão**. 2010.

LE FRANÇOIS, Brice. **Estresse leve crônico e tratamento antidepressivo alteram a expressão do receptor 5-HT1A modificando a metilação do DNA de um sítio Sp4 conservado**. 2015.

LEIBROCK, J. **Clonagem molecular e expressão do fator neurotrófico do cérebro**. 1989.

LIMA, Lainy. **Genética do comportamento: psicopatologias**. 2015.

LOPEZ, Juan. ARON, Kos. **Major depression and its treatment: microRNAs as peripheral biomarkers of diagnosis and treatment response**. 2018.

LOPEZ-MUNOZ, F.; ALAMO, C. Neurotransmissão monoaminérgica: a história da descoberta de antidepressivos de 1950 até hoje. **Curr. Pharm. Des**. 2009.

MALHI, GIN. **Unlocking the diagnosis of depression in primary care: Which key symptoms are GPs using to determine diagnosis and severity?** 2013.

MALHI, Gin. MANN, Jhon. **Depression**. Lancet. 2018.

MARTINEZ, M. GONZALEZ, A.P. Suplementos nutricionais em transtornos depressivos. **Actas espanolas de psiquiatria**. 2017; 45 (Suplemento): 8–15.

MASSART, R. MONGEAU, R. LANFUMEY, L. Além da hipótese monoaminérgica: neuroplasticidade e mudanças epigenéticas em um modelo de rato transgênico de depressão. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sei**. 2012.

MELO, Alexandre. Sintomatologia depressiva e suas repercussões na representação social da depressão: um estudo com adolescentes. **Cienc. Psicol**. vol.15 no.2 Montevideo. 2021.

MOLINA, M. R. A. L et al. Prevalência de depressão em usuários de unidades de atenção primária. **Revista de Psiquiatria Clínica**. V. 39 (n.6), 194-197. 2012.

MENDES, Elzilaine. Melancolia e depressão: Um estudo psicanalítico. **Psicologia: Teoria e Pesquisa**. Goiás. 2014.

MUTESA, LEON. **Epigenética do estresse traumático**. 2018.

NINAN, I. BATH, KG. The BDNF Val66Met polymorphism impairs NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in the hippocampus. **J Neurosci**. 2010.

OKEREKE, O.I. COOK, N.R. Effect of long-term supplementation with folic acid and B vitamins on risk of depression in older women. **The British Journal of Psychiatry**. 2015.

PEEDICAYIL, Jacob; KUMAR, Aniket. Epigenetic Drugs for Mood Disorders. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, v.157, p.151-166, 2018.

PEÑA, Catherine J.; NESTLER, Eric J. Progress in Epigenetics of Depression. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, v.157, p.41-61, 2018.

PENG, Shiyong. LUXIAN, Lv. BDNF as a biomarker in diagnosis and evaluation of

treatment for schizophrenia and depression. **Discov Med**. 2018.

PENNER – GOEKE, Signe. Epigenetics and depression. **Dialogues clin neurosci**. 2019.

PENNINX, B W J H. **Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in major depressive disorder**: state–trait issues, clinical features and pharmacological treatment. 2011.

PERRETI, S. Safety and tolerability considerations: tricyclic antidepressants vs. selective serotonin reuptake inhibitors. **Acta Scandinavica**. 2007.

PLOMIN, R. et. al. **Genética do comportamento**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed. 480p, 2011.

POLDERMAN, T. Meta-analysis of the heritability of human traits based on fifty years of twin studies. **Nature Genetics**. 2015.

RENZI, Chiara et al. From Epigenetics Associations to Biological and Psychosocial Explanations in Mental Health. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, 2018.

REUS, GZ et al. O ômega-3 e o ácido fólico atuam contra o comportamento do tipo depressivo e o dano oxidativo no cérebro de ratos submetidos a estresse no início ou no fim da vida. **Nutrição** (Burbank, Condado de Los Angeles, Califórnia). 2018.

REYNOLDS, Willian. **Reynolds depression screening inventory**. 2016.

ROCHA, Thiago. **Interação gene - ambiente na depressão maior em jovens**: replicação da modificação do efeito dos maus tratos por polimorfismos no gene do transportador da serotonina. Rio Grande do Sul. 2014.

RUFINO, Sueli. Aspectos gerais, sintomas e diagnóstico da depressão. **Revista Saúde em Foco**. Ed. Nº 10. 2018.

RUTTEN, Bart P.F. Neuroepigenetics of Mental Illness: The Inside Outs of the Outside Within. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, 2018.

SEO, M.K., Ly, N.N., LEE, C.H., CHO, H.Y., CHOI, C.M., LEE, J.G., et al. Early life stress increases stress vulnerability through BDNF gene epigenetic changes in the rat hippocampus. **Neuropharmacology** 105, 388–397. 2016.

SEETAL, Dodd. MALHI, Gin. Nocebo Effects in the Treatment of Major Depression: Results From an Individual Study Participant-Level Meta-Analysis of the Placebo Arm of Duloxetine Clinical Trials. **The Journal of Clinical Psychiatry**. 2015.

SHANDRINA, Maria. **Fatores genéticos na doença de depressão maior**. 2018.

SLAVICH, G.M., IRWIN, M.R. From stress to inflammation and major depressive disorder: a social signal transduction theory of depression. **Psychol. Bull.** 140 (3),

774. 2014.

SIDNEY, Kennedy. Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) Clinical Guidelines for the Management of Adults with Major Depressive Disorder: Section 3. **Pharmacological Treatments**. 2016.

SLAVIK, V. DOLEZAL, T. Cerebrospinal fluid: functions, composition, and disorders. **Nova Biomedical Books**. 2012.

SUN, H., Kennedy, P.J., NESTLER, E.J. Epigenetics of the depressed brain: role of histone acetylation and methylation. **Neuropsychopharmacology** 38 (1), 124. 2014.

TSAI, SJ. Critical issues in BDNF Val66Met genetic studies of neuropsychiatric disorders. **Front Mol Neurosci**. 2018.

TURECKI, G. Suicidal behavior: is there a genetic predisposition? **Bipolar Disorders** 3, 335–349, 2001.

UNDURRAGA, Juan. Randomized, placebo-controlled trials of antidepressants for acute major depression: thirty-year meta-analytic review. **Neurophysicopharmacoly**. 2012.

VALDEIR, Del Cont. **Francis Galton**: eugenia e hereditariedade. Jun, 2008.

VETENCOURT, Maya et al. Serotonin triggers a transient epigenetic mechanism that reinstates adult visual cortex plasticity in rats. **Eur J Neurosci**. 2011.

VIALOU, V. Feng, J. Mecanismos epigenéticos de depressão e ação antidepressiva. **Annu. Rev Pharmacol Toxicol**. 2013; 53: 59-87.

WEAVER, IC. CHAMPAGNE, FA et al. Programação epigenética pelo comportamento materno. **Nat Neurosci**. 2004; 7 (8): 847-854.

WILLNER, Paul. The neurobiology of depression and antidepressant action. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**. 2013.

WOHLEB, ES. Et al. Integrando sistemas neuroimunes na neurobiologia da depressão. **Nat. Rev. Neurosci**. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Vídeo “I had a black dog: his name was depression”**. 2014.

YUAN, H., MISCHOULON, D., FAVA, M. and OTTO, M. W. Circulating microRNAs as biomarkers for depression: Many candidates, few finalists. **J. Affect. Disord**. 2018.

ZANONATO, Estéphy Rodrigues. COSTA, Aline Bogoni. Precisamos falar sobre a depressão: estigma com relação a este sofrimento psíquico na contemporaneidade. **Brazilian Journal of Development**. v. 7, n. 1, jan. 2021.

ZHOU, Yue. O ácido fólico melhora o comportamento semelhante à depressão em um modelo de rato de estresse leve e imprevisível crônico. **BMC Neuroscience**. 2020.

ZOBEL AW et al. Effects of the high-affinity corticotropin-releasing hormone receptor 1 antagonist R121919 in major depression: the first 20 patients treated. **J Psychiatr Res**. 2000.

# BAIXA ABSORÇÃO NUTRICIONAL EM PACIENTES PÓS COVID E SEUS EFEITOS COLATERAIS

## LOW NUTRITIONAL ABSORPTION IN POST-COVID PATIENTS AND ITS SIDE EFFECTS

Ana Paula Gomes Fernandes<sup>1</sup>  
Newton Hashimoto<sup>2</sup>

### RESUMO

O COVID-19 é uma doença decorrente da infecção respiratória aguda grave causada pelo novo betacoronavírus, conhecido como SARS-CoV-2. A doença foi identificada inicialmente na cidade de Wuhan, na China, em 31 de dezembro de 2019, e se disseminou pelo mundo rapidamente, sendo decretada a pandemia no início de março de 2020 pela Organização Mundial da Saúde (OMS). É uma doença que pode se manifestar de forma assintomática ou sintomática, que pode levar desde um processo inflamatório agudo a quadros respiratórios graves. Há evidências de vários estudos sugerindo o sistema digestivo como uma via em potencial para disseminação do vírus por via fecal-oral, estando relacionado com sintomas gastrointestinais, como diarreia e anorexia. Este estudo teve como objetivo realizar uma revisão sistemática da literatura referente à doença COVID-19, avaliando as principais manifestações gastrointestinais, bem como analisar a terapia nutricional nas possíveis sequelas pós COVID-19. Foram realizadas buscas na literatura utilizando as bases de dados eletrônicos, Scielo, Elsevier, Google Scholar, PUBMED nos anos de 2020, 2021 e 2022. É importante saber que o SARS CoV-2 pode habitar o trato gastrointestinal, trazendo consigo várias consequências ao organismo de médio a longo prazo, e ainda estão sendo estudadas suas sequelas pois não é possível dizer se elas são temporárias ou permanentes.

**Palavras-chave:** Sars-CoV -2; sequela gastrointestinal; nutrição pós COVID-19

### ABSTRACT

COVID-19 is a disease resulting from severe acute respiratory infection caused by the new betacoronavirus, known as SARS-CoV-2. The disease was initially identified in the city of Wuhan, in China, on December 31 2019 and quickly spread around the world, being declared a pandemic in early March 2020 by the World Health Organization (WHO). It is a disease that can manifest asymptotically or symptomatically, leading to severe respiratory conditions or an acute inflammatory process. There is evidence that suggests the digestive system as a potential route for the spread of the virus via the fecal-oral route, being related to gastrointestinal symptoms, such as diarrhea and eating disorder. This study aimed to carry out a systematic review of the literature regarding the COVID-19 disease, evaluating the

<sup>1</sup> Graduanda do curso de biomedicina pela Unifil- Centro Universitário Filadélfia. E-mail: anafernandes@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Professor Orientador. Docente do Curso Superior de Biomedicina no Centro Universitário Filadélfia – Unifil. E-mail: newton.hashimoto@unifil.br

main gastrointestinal manifestations as well as analyzing the nutritional therapy for post-COVID sequelae. Literature searches were carried out using the electronic databases, Scielo, Elsevier, Google Scholar, PUBMED in the years 2020, 2021 and 2022. It is important to know that SARS-CoV-2 can inhabit the gastrointestinal tract, bringing with it medium to long-term consequences for the organism and its sequelae has still been studied because it is not possible to say if they are temporary or permanent.

**Key words:** Sars-CoV -2; gastrointestinal sequelae; post COVID-19 Nutrition.

## 1 INTRODUÇÃO

O COVID-19 é uma doença decorrente da infecção respiratória aguda grave causada pelo novo betacoronavírus, conhecida como SARS-CoV-2. A doença foi identificada inicialmente na cidade de Wuhan, na China, em 31 de dezembro de 2019 e se disseminou pelo mundo rapidamente, sendo decretada a pandemia no início de março de 2020 pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Em maio de 2020 já havia mais de 4 milhões de casos e óbitos confirmados no mundo (MORAIS et al.,2021)

No Brasil, o 1º caso registrado foi no dia 26 de fevereiro de 2020 e o maior registro de casos e óbitos no país foi no dia 07 de janeiro de 2021, com mais de 8.600.000 confirmados. Há registro de 20.026.533 casos acumulados, 559.607 óbitos acumulados, 18.800.884 recuperados, 666.042 em acompanhamento até agosto de 2021 no Brasil, segundo dados epidemiológicos divulgados pela Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (SVS/MS). Após a campanha de vacinação foi registrado uma queda de casos, sendo 6.230.357 de óbitos no mundo e 663.225 de óbitos no Brasil, 509.531.232 casos no mundo e 30.418.920 casos no Brasil, com 29.499.422 de pessoas recuperadas em abril de 2022 segundo dados das Secretarias Estaduais de Saúde (CONASS).

A COVID-19 é uma doença que pode se manifestar de forma assintomática ou sintomática, podendo levar à quadros respiratórios graves ou processo inflamatório agudo. Segundo estudos do BUTANTAN, cerca de 20% a 40% são assintomáticos, 40% apresentam sintomas leves, 20% são casos que requer hospitalização e desses 20% aproximadamente 5% podem desenvolver síndrome respiratória aguda grave (SARS) ou necessitar de suporte ventilatório (BUTANTAN, 2021 ; OBA et al., 2020).

Sua transmissão pode ocorrer por contato, gotículas, aerossóis, fômites, fecal

oral, pelo sangue, e de mãe para filho (OPAS, 2020)

Os principais sintomas são febre, dispnéia, fadiga, tosse seca ou produtiva, dor abdominal, vômitos, diarreia, anosmia/hiposmia acompanhada de ageusia, anorexia, cefaleia, odinofagia e mialgia. Os fatores de risco que contribuem para o agravamento da doença e podem levar ao óbito são a condição idosa dos pacientes com ou sem comorbidades como hipertensão (HAS); diabetes *mellitus* (DM); doença renal, cardíaca ou pulmonar crônica; imunossuprimidos e obesidade (CUNHA et al., 2020).

Quando o paciente apresenta sintomas gastrointestinais, pode desenvolver a forma grave da doença, pois a presença do vírus no intestino desencadeia processo inflamatório, sendo um dos sintomas iniciais ocasionado a diarreia (OBA et al., 2020).

Os sintomas gastrointestinais são náuseas, que apresentam uma incidência de 1,0 - 19,3% dos casos; anorexia, que varia entre 33,1 - 39,9% dos casos; vômitos, que varia de 1,0 - 10,5% dos casos; dor abdominal que possui a incidência de 2,2 - 5,8% dos casos; e diarreia que possui a incidência que varia de 2,0 a 47,9%. A diarreia é portanto o sintoma gastrointestinal mais comum e que pode levar a distúrbios eletrolíticos, como a diminuição dos níveis de sódio sérico, e ser acompanhado por alterações de biomarcadores relacionados à função e lesão hepática (LEI et al., 2021; OGASSAWARA et al., 2021). Em 22% dos casos antes do diagnóstico ocorre a diarreia como primeiro sintoma na ausência de sintomas respiratórios (OBA et al. 2020).

As crianças são as que mais têm incidência de sintomas gastrointestinais, principalmente vômitos, portanto é necessário, além dos cuidados já estabelecidos para evitar a propagação da COVID-19, a prevenção e controle da transmissão fecal oral (MESQUITA et al., 2021).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o envolvimento do SARS-CoV-2 no comprometimento do trato gastrointestinal durante a infecção e as possíveis repercussões no estado nutricional dos pacientes pós-COVID-19 que acarretam em sequelas importantes no organismo.

## 2 METODOLOGIA

A abordagem metodológica adotada foi a revisão bibliográfica narrativa do tipo qualitativa, exploratória e explicativa, utilizando como ferramenta as fontes de sites

como Scientific Electronic Library Online (SciELO), National Library of Medicine (Via PubMed) e Google Scholar. Foram selecionados artigos e livros, que incluíram os idiomas português e inglês, no período de busca dos últimos 3 anos, com acesso livre na íntegra.

Os descritores utilizados para a busca e para a definição das palavras-chaves desta pesquisa foram: Sars-CoV -2, Gastrointestinal, Nutrição pós COVID-19.

### 3 DESENVOLVIMENTO

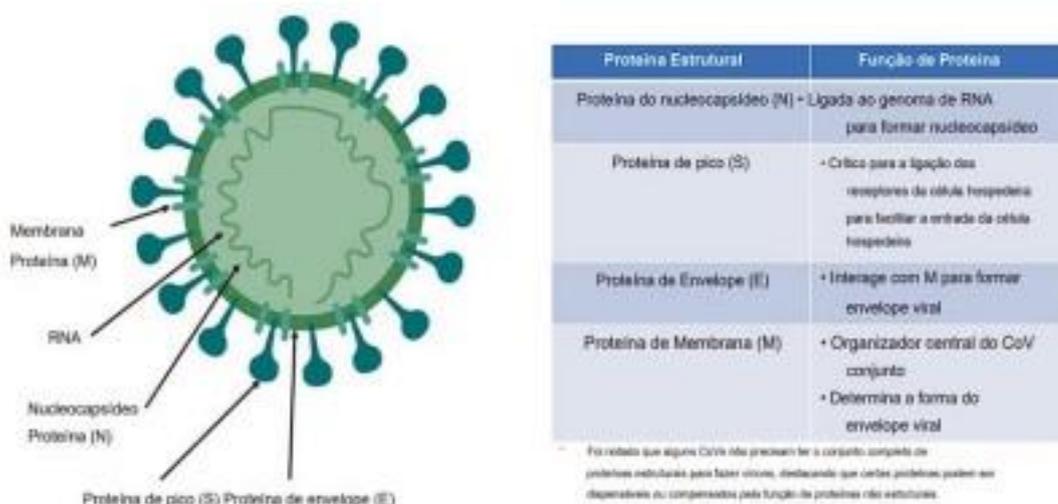
#### 3.1 Propriedades biológicas do vírus

O SARS-CoV-2 é um *Betacoronavírus* pertencente ao subgênero *Sarbecovírus* da família Coronaviridae que causa infecções respiratórias, e seu nome se dá em decorrência a sua morfologia microscópica que é similar a uma coroa (LAMERS et al., 2020).

A estrutura do vírus compreende o envelope que envolve o capsídeo helicoidal, que protege o RNA genômico viral, e de algumas proteínas como a replicase (responsável por catalisar a autorreplicação de cadeias simples em RNA). As principais proteínas estruturais do vírus são a proteína S (spike - que permite a ligação do vírus a célula e também é um dos principais alvos dos anticorpos); a proteína N (nucleocapsídeo, que auxilia na ocultação do RNA viral do sistema imunológico); proteína M (membrana - compõe a membrana e ajuda na formação do envelope) e por fim, a proteína E (envelope que auxilia na infecção celular e disseminação) (CESPEDES; SOUZA, 2020; SEAH et al., 2020).

O SARS-CoV-2 possui em sua composição genética uma fita simples positiva de RNA que funciona como uma molécula de RNA mensageiro no citoplasma celular da célula infectada, tornando-se capaz de expressar diretamente seu conteúdo genético (SILVA DANTAS et al., 2020; UZUNIAN, 2020).

**Figura 1 - Esquema geral da estrutura do vírus.**



**Fonte:** SEAH; SU; LINGAM, (2020).

O vírus entra na célula do hospedeiro pela afinidade da sua proteína S com os receptores da enzima ECA 2 presente nas células epiteliais do trato respiratório superior e inferior, rim, coração e intestino, o que favorece o tropismo por essas regiões (LOUREIRO et al., 2020).

Após a formação do complexo com a ECA 2, a proteína S é clivada por uma proteína chamada transmembrana protease serina tipo 2 (TMPRSS2) que vai permitir a ativação e fusão da membrana viral à membrana celular e assim irá ocorrer a liberação do genoma viral dentro da célula (LOUREIRO et al., 2020).

Dentro da célula do hospedeiro, o vírus utilizará o RNA ribossomal para traduzir enzimas como a replicase, que auxiliará na síntese de novos genomas virais. A partir desta etapa são formados novos RNAs e proteínas estruturais, que são montadas no retículo endoplasmático e finalizadas no complexo de Golgi, sendo as partículas virais depois liberadas por exocitose. Cada célula pode gerar entre 10.000 a 100.000 cópias. (LOUREIRO et al., 2020)

O vírus é de fácil transmissão devido a sua forma de contaminação direta através de gotículas ou aerossóis, pela saliva, tosse, espirro e por contato. Uma pessoa pode começar a transmitir o vírus dois dias antes de perceber os sintomas e até dez dias após o seu início (NAPOLEÃO et al., 2021).

Alguns estudos avaliaram a carga viral produzida numa infecção pelo SARS CoV. As cargas virais foram medidas de duas maneiras: a primeira foi quantificando o genoma de RNA viral por qRT-PCR e a segunda foi medindo o número de unidades

infecciosas em cultura de tecidos. Esses estudos mostraram que as cargas virais produzidas por cada célula infectada são de  $10^5$  a  $10^6$  vírus ou 10 a 100 unidades infecciosas, coincidindo com a média de outros betacoronavirus.

Na fase da infecção mais característica, em que o vírus acomete as células do sistema respiratório, afetando mais especificamente os pneumócitos, macrófagos alveolares e as células da mucosa na cavidade nasal, a estimativa é que o vírus infecte cerca de  $10^9$  a  $10^{11}$  células por hospedeiro (SENDER et al., 2021).

Nesse estudo também foi estimado que a infecção das células epiteliais do intestino produz cerca de  $10^3$  a  $10^7$  vírus por célula infectada (SENDER et al., 2021). Através de cálculos a partir desses resultados, foi estimado que cada pessoa infectada carregue cerca de 1 bilhão a 100 bilhões de vírus durante o pico da infecção (SENDER et al., 2021).

Considerando que o tempo médio entre as infecções sucessivas é cerca de 4 a 5 dias, pode-se estimar uma taxa de 3 mutações por mês ao longo da epidemia.

Isso é também constatado com os valores empíricos observados durante a pandemia do Coronavírus, conhecido como taxa de evolução, que é estimada a partir da análise da taxa do acúmulo de mutações no genoma em diferentes pontos de tempo ao longo da pandemia, usando a reconstrução de árvores filogenéticas (SENDER et al., 2021).

Existem cinco tipos de vírus: os Alfacoronavirus, Betacoronavirus, Gamacoronavirus, Zetacoronavirus e Deltacoronavirus (SEAH, SU, LINGAM, 2020), (MICHELON, 2021).

A variante ALFA (variante B.1.1.7 - Reino Unido) foi detectada em setembro de 2020 e tornou-se dominante em dezembro do mesmo ano, sendo detectada também no Brasil nesta mesma época. A variante ALFA apresenta 7 mutações da proteína SPIKE, englobando a mutação N501Y, que leva à uma maior afinidade com o receptor ECA-2, o que pode explicar sua rápida expansão e resistência à neutralização dos anticorpos. Essa variante também possui mutações de deleção, resultando em perda de aminoácidos no domínio N-terminal (NTD) da proteína S, que pode contribuir para o escape da resposta imune, considerando que os aminoácidos NTD estão relacionados a ação dos anticorpos neutralizantes. Essa perda pode influenciar na sensibilidade de kits diagnósticos por sondas voltadas na detecção desta sequência

pois perdem a capacidade de se ligar ao amplicon, gerando falso negativo. É uma das variantes mais transmissíveis e letais comparada às outras variantes (DEJNIRATTISAI et al., 2021; LEUNG et al., 2021; SANTOS et al., 2021; SUPASA et al., 2021).

A variante BETA (variante B.1.351 - Sul-Africana) foi detectada na África do Sul em outubro de 2020, se espalhando rapidamente em toda a região, se tornando dominante na Província do Cabo Oriental, na Província de Eastern Cape e Western Cape e na Europa Ocidental. No Brasil só foi detectada em abril de 2021. Essa variante possui 12 mutações não sinônimas e uma deleção, sendo a maior parte das mutações localizadas na proteína S, enquanto as outras foram encontradas nas regiões ORF1a, na proteína E e na proteína N. Essas mutações intensificam a afinidade do vírus pelo receptor, aumentando a sua transmissão e permitindo sua evasão do sistema imune ao dificultar a neutralização pelos anticorpos. A gravidade do quadro clínico produzida por essa variante levou a uma maior necessidade de admissão de pacientes em unidades de terapia intensiva quando comparado com os infectados pelas outras variantes, segundo estudos realizados na Europa (GÓMEZ et al., 2021; NELSON et al., 2021; SLAVOV et al., 2021; TEGALLY et al., 2021; ZHOU et al., 2021; WANG et al., 2021).

A variante GAMA (variante B.1.1.28.1 ou P.1 - Brasil, Manaus) foi detectada em Manaus em dezembro de 2020. A variante P.1 apresenta uma mutação única que inclui alterações genéticas importantes associadas à evasão da resposta imune. Essa variante é refratária a diversos anticorpos monoclonais, apresentando uma resistência maior à neutralização por plasma convalescente e soro obtido de indivíduos vacinados. Esta variante está relacionada a maior transmissibilidade e maior risco de reinfecção pelo Coronavírus. Um outro estudo demonstrou que no estado do Amazonas houve aumento da mortalidade em indivíduos com faixa etária dos 20 aos 50 anos, em ambos os sexos. Esses dados mostram que essa variante está associada a alterações na virulência e patogenicidade do vírus (FARIA et al., 2021; FREITAS et al., 2021; WANG et al., 2021).

A ZETA (variante B.1.1.20.2 ou P.2 - Brasil, Rio de Janeiro) foi detectada em outubro de 2020 no Rio de Janeiro. Essa variante tem como característica cinco mutações definidoras e cinco mutações que estão presentes no genoma. A mutação

no E484K é uma das mais preocupantes, pois o local E484 é onde as mutações têm o maior efeito sobre a ligação de anticorpos e pode reduzir a potência de neutralização de alguns plasmas humanos em mais de 10 vezes. Essa resistência à neutralização pode explicar os casos de reinfecção por essa variante no Brasil (BAUM et al., 2021; FINTELMAN-RODRIGUES et al., 2021; GREANEY et al., 2021; LIU et al., 2021; NONAKA et al., 2021; VOLOCH et al., 2021).

A DELTA/KAPA (variante B.1.617 - Índia) foi detectada em dezembro de 2020. Possui três linhagens denominadas B.1.617.1, B.1.617.2 e B.1.617.3 que possuem pequenas diferenças entre si. No Brasil, os primeiros casos foram detectados em maio de 2021. Na variante B.1.617, 13 mutações foram identificadas que resultaram em substituições de aminoácidos em diversas proteínas do vírus. As mutações encontradas na proteína S são as que mais preocupam. Além disso, foram encontradas também duas mutações na região NTD (G142D e E154K), duas na região RBD (L452R e E484Q) e uma no local de clivagem da furina polibásica no limite S1/S2 (P681R) (EDARA et al., 2021). Conforme Cherian et al. (2021), essa situação, em que mutações na região RBD (domínio de ligação ao receptor) estão associadas à mutação no local de clivagem da furina, pode resultar em aumento na ligação do vírus à ECA-2 e maior taxa de clivagem S1/S2, resultando em maior infectividade e transmissibilidade respectivamente. Um estudo sugeriu ainda que indivíduos infectados anteriormente com as variantes B.1.351 (Beta) e P.1 (Gama) são provavelmente mais suscetíveis à reinfecção pela cepa Delta (LIU et al., 2021).

Estudos recentes mostram a detecção de outras variantes como a LAMBDA (variantes C.37 - Variante Andina) encontrada no Peru em dezembro de 2020, e mais duas variantes encontradas no Brasil: a de Linhagem B.1.1.33 e a B.1.1.28 (MICHELON, 2021).

Ainda, dentre as variantes que se destacam estão o tipo alfa coronavírus HCoV 229E e HCoV- NL63, e os tipos beta coronavírus HCoV-OC43, HCoV-HKU1, MERS CoV (causador da síndrome respiratória do Oriente Médio), SARS-CoV (causador da síndrome respiratória aguda grave) e SARS-CoV-2 (novo coronavírus identificado no final de 2019) (DA SILVA DANTAS et al., 2020).

Sabe-se que o SARS-CoV-2 e as outras variantes possuem uma evasão imune que dificulta a sua neutralização. A variante OMICRON, por exemplo, resulta na

combinação de um aumento na transmissibilidade e na capacidade de evadir a resposta de um sistema imune conferido por uma infecção prévia por outra variante ou vacinação. Alguns estudos sugerem uma evasão maior do que um aumento de transmissibilidade. Há uma possibilidade de que a imunidade conferida pela infecção ou vacinação prévia seja reduzida em comparação com a variante DELTA mas não superada completamente. Alguns estudos sugerem também que a variante OMICRON seja menos grave do que as variantes anteriores (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION et al., 2021).

### 3.2 Aspectos gerais da infecção COVID-19

A infecção das células pelos coronavírus inicia-se a partir da etapa de adsorção, quando a região RBD da glicoproteína viral S interage com receptores de membrana da célula hospedeira. O tipo do receptor de membrana celular em que ocorre a ligação à região RBD da glicoproteína viral S vai depender do tipo da variante do coronavírus, sendo que, por exemplo, o SARS-CoV e o SARS-CoV-2 ligam-se ao receptor ECA2 enquanto outros podem se ligar ao Receptor Aminopeptidase (APN) (BORGES et al., 2020).

A eficiência da ligação entre o coronavírus e os receptores celulares é o que determina a susceptibilidade do indivíduo à infecção para uma certa variante, a virulência, assim como define o tropismo viral para determinados tecidos (HOFFMANN et al., 2020). Por exemplo, em relação a suscetibilidade do hospedeiro, o SARS-CoV-2 tem uma maior afinidade ao receptor ECA2 que o SARS-CoV, cerca de 10 a 20 vezes maior, o que permite maior disseminação do SARS-CoV-2 quando comparado à SARS-CoV (HOFFMANN et al., 2020).

Em relação ao tropismo viral à determinados tecidos do hospedeiro humano, o SARS-CoV-2 e o SARS-CoV são capazes de infectar células epiteliais dos alvéolos pulmonares, enterócitos do intestino delgado, células endoteliais venosas e arteriais, e em células da mucosa oral. Isso ocorre porque essas células amplamente expressam receptor ECA2 (HAMMING et al., 2004).

Esse entendimento explica também o motivo das diferenças individuais de suscetibilidade à infecção, possivelmente resultante do polimorfismos de ECA2 para

cada pessoa (DEVAUX et al., 2020).

Além dos aspectos genéticos que levam a diferença de suscetibilidade ao COVID-19, outros fatores podem favorecer a infecção para um determinado grupo de pacientes. Estudos demonstraram que diabéticos e hipertensos possuem maior risco de desenvolver a forma severa da infecção (GUAN; ZHONG, 2020). No Brasil, os pacientes que possuem doenças cardiovasculares constituem um grupo importante de causas de óbitos. Verificou-se que essa predisposição à infecção mais severa do COVID-19 está relacionada à maior expressão de ECA2 nos tecidos, induzida possivelmente por essas comorbidades ou mesmo pelo medicamentos usados no tratamento, como os inibidores de ECA (FANG; KARAKIULAKIS; ROTH, 2020; VIEIRA et al., 2021)

O acometimento de pacientes hipertensos em estado crítico por COVID-19 não é incomum pois o SARS-CoV-2 causa lesão ao sistema cardiovascular por diferentes mecanismos, piorando a comorbidade do paciente. A lesão cardiovascular pode ocorrer pela ação direta do vírus ou também através da resposta inflamatória sistêmica que resulta da tempestade de citocinas (FERREIRA; SIMOES; LIMA, 2022; KISELEVA et al., 2018).

O órgão mais afetado numa infecção mais severa é o pulmão. Geralmente o comprometimento pulmonar resulta na diminuição das trocas gasosas do sangue, provocando hipoxemia nos pacientes, gerando sintomas iniciais de falta de ar que progressivamente vai evoluindo até chegar a Síndrome Respiratória Aguda grave (SARS) (CHEN et al., 2020).

O coronavírus pode causar danos ao pulmão por meio de quatro mecanismos, sendo eles: lesão direta a células hospedeira; desregulação das vias ativadas por ECA2 (potencializando a ativação inflamatória); danos às células endoteliais (obstruindo os vasos sanguíneos e/ou perdendo sua estrutura, levando a hipóxia tecidual e/ou extravasamento de líquido para os tecidos); e desregulação do sistema imune (levando à tempestade de citocinas e à inflamações descontroladas) (ZARRILLI et al., 2021)

O sistema imune atua no organismo recrutando fagócitos e produzindo citocinas e fatores quimiotáticos como o IFN-1. A forma grave da COVID-19 é caracterizada pela tempestade de citocinas, que é um perfil inflamatório grave e que

pode ser fatal por evoluir com insuficiência respiratória, falência múltipla de órgãos e sepse (BRANDÃO et al., 2020).

### **3.3 Mecanismo de infecção do trato gastrointestinal**

Vários mecanismos em potencial têm sido sugeridos para o desenvolvimento de problemas gastrointestinais. Incluindo impactos citopáticos induzidos pelo vírus através de ECA2, tempestade de citocinas inflamatórias imunomediadas, a função do eixo intestino-pulmão, bem como danos relacionados a drogas. Essas vias também podem contribuir para a sepse e a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), que são as principais causas de morte em pacientes com COVID-19. No entanto, as condições subjacentes originais podem afetar o tratamento e o prognóstico do paciente, não apenas nos casos de COVID-19, mas também em doenças gastrointestinais (LEI et al., 2021).

O vírus possui afinidade pelos receptores da ECA que estão presentes em vários tecidos do corpo como por exemplo o pulmão e o sistema digestório. A interação do vírus com o receptor ECA 2 e a serinoprotease TMPRSS2 (presente no sistema respiratório e no trato gastrointestinal) pode induzir a inflamação e diarreia quando há perturbação do enterócito normal, devido a inibição da expressão de transportadores de aminoácidos que desregula a secreção de peptídeos antimicrobianos pelas células de Paneth e causa desequilíbrio na microbiota intestinal (ALBUQUERQUE FILHO, 2020).

Foram realizados estudos focados nos sintomas gastrointestinais na China e foi detectado a presença do vírus nas fezes em quase 50% dos pacientes infectados. Sua detecção foi realizada através da pesquisa do RNA viral presente nas fezes, indicando sua secreção através das células gastrointestinais que estão infectadas pelo vírus, podendo permanecer nas fezes por muito tempo mesmo após cessar a colonização do vírus no sistema respiratório, sendo portanto possível a transmissão fecal-oral. O seu diagnóstico pode ser feito pelo teste de biologia molecular (RT-PCR em tempo real) para detectar o RNA do vírus nas fezes (SILVA et al., 2020).

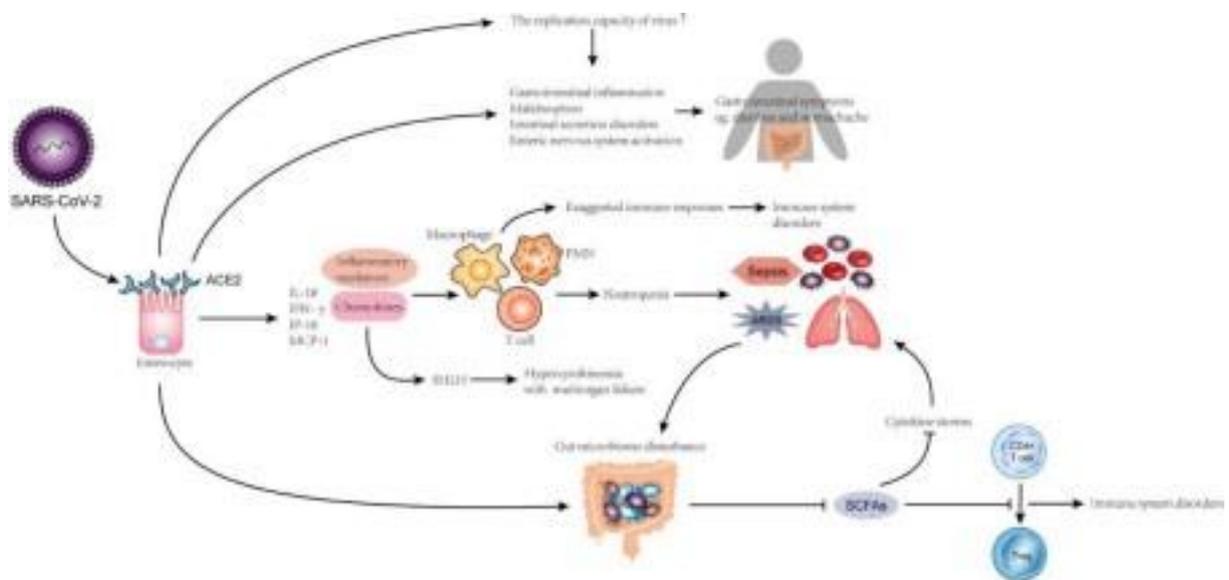
O sistema gastrointestinal é um dos locais de entrada e replicação do vírus SARS-CoV-2, sendo um dos principais órgãos extrapulmonar que funciona como uma

rota potencial de disseminação do vírus. Além disso, estudos mostraram a presença de SARS-CoV-2 em úlceras esofágicas, estômago, duodeno e tecidos retais (OGASSAWARA et al., 2021). É possível que os enterócitos intestinais lesionados pelo vírus possam causar disfunção do íleo e cólon levando a má absorção, desequilíbrio na secreção intestinal e ativação do sistema nervoso entérico resultando na presença de diarreia. (DÍAZ; ESPINO, 2020; CHA et al., 2020; HAYASHI et al., 2021).

Três mecanismos possíveis para o dano do SARS-CoV-2 no trato gastrointestinal. 1. Os vírus desregulam a microbiota intestinal, aumentando o risco de tempestade de citocina e danificando o sistema imunológico (especialmente nos pulmões). 2. Os vírus causam doenças ao afetar diretamente as células do trato gastrointestinal, causando os sintomas de dor abdominal, vômitos, dentre outros. 3.

Os vírus induzem a secreção de fatores inflamatórios e quimiocinas em grandes quantidades e podem causar hipercitose e falência múltipla de órgãos . A neutropenia resultante desse quadro aumenta o risco de sepse e SDRA (MASSON, 2021).

**Figura 2 - Mecanismo de lesão do SARS-CoV-2 no trato gastrointestinal**



Fonte: Masson (2021)

Uma análise de pacientes com sintomas gastrointestinais concluiu que eles eram mais propensos do que pacientes assintomáticos a desenvolver COVID-19 grave, resultando em sintomas específicos e alterações laboratoriais, como níveis séricos de enzimas hepáticas anormais, levando a pior prognóstico da doença (SILVA

FAF et al., 2020; ZHANG et al., 2020).

Inúmeras complicações gastrointestinais foram relatadas em pacientes críticos com COVID-19, algumas com fatores de risco para doença inflamatória crônica, comorbidades e uso de glicocorticóides. As complicações durante a hospitalização de longa duração podem variar, sendo as principais a intolerância alimentar e a isquemia mesentérica. A isquemia mesentérica é a complicação mais grave, resultando em morte devida à altas doses de vasopressores, instabilidade hemodinâmica, distúrbios metabólicos e fluxo sanguíneo intestinal prejudicado. (KAAFARANI et al., 2020; SUNANDA et al., 2021).

Em relação aos danos no fígado, o SARS-CoV-2 pode causar danos transitórios leves às células do fígado, mas também podem ocorrer danos graves. As enzimas hepáticas (transaminases aspartato/alanina transferase, fosfatase alcalina e gama-glutamilttransferase) e a bilirrubina total estão elevadas em aproximadamente 30% dos pacientes com COVID-19. Os níveis de amilase e lipase podem também estar alteradas, indicando possível dano pancreático. Isso se deve ao efeito citopático direto do vírus ou a uma resposta inflamatória sistêmica indireta imunomediada, levando a danos nos órgãos ou anormalidades enzimáticas secundárias. Em pacientes criticamente enfermos, a incidência de colecistite aguda e pancreatite aguda foi relatada. (KAAFARANI et al., 2020). Além disso, o uso de medicamentos antivirais pode causar danos ao fígado, como lopinavir/ritonavir (OGASSAWARA et al., 2021). A pseudo-obstrução colônica aguda, complicação descrita em alguns estudos, caracterizada por grave insuflação de gás sem obstrução distal aparente, é característica da síndrome colônica em pacientes críticos (KAAFARANI et al., 2020). Existem outras condições inflamatórias crônicas, como a doença inflamatória intestinal (DII), que podem tornar uma pessoa mais suscetível à infecção por COVID 19 ou levar a um curso mais grave da doença, exigindo hospitalização prolongada ou ventilação assistida.(OGASSAWARA et al., 2021).

### **3.4 Evidências de alteração do Status nutricional do paciente com COVID**

A pandemia de COVID-19 aumentou direta e indiretamente a dupla carga de desnutrição, um fenômeno anteriormente restrito principalmente aos países em

desenvolvimento e que agora está sendo experimentado em todo o mundo. Apesar da prevalência de desnutrição e deficiências de micronutrientes, e do aumento do sobrepeso/obesidade devido a doenças crônicas e má nutrição, estudos relacionam essa condição também à própria infecção e seus danos associados à COVID-19 (ANTWI et al., 2021).

A ação do vírus SARS-CoV-2 e suas sequelas associadas podem afetar negativamente o estado nutricional (ANTWI et al., 2021). Anosmia/hiposmia, perda total ou parcial do olfato e disgeusia/ageusia, que significa perda parcial ou total do paladar, são sintomas muito comuns de COVID-19. Não está claro como o COVID-19 prejudica o sentido olfativo e gustativo, mas foi sugerido que o SARS-CoV-2 tem como alvo os receptores ACE2 dos neurônios envolvidos no olfato e paladar para invadir este tipo de células para a sua multiplicação (LEE et al., 2019).

Os sentidos do olfato e do paladar desempenham um papel fundamental na escolha dos alimentos e na obtenção de nutrição. Eles estão intrinsecamente ligados e mudar um ou ambos pode afetar a experiência gastronômica. Algumas das consequências das alterações no paladar e no olfato incluem a diminuição do apetite, diminuição do prazer de comer e perda de interesse pela comida (KERSHAW; MATTES, 2018).

A COVID-19 afeta a resposta imune modulando as vias inflamatórias, levando à desnutrição e deficiências de micronutrientes, o que pode retardar ainda mais a recuperação do paciente (ANTWI et al., 2021). Durante a infecção por SARS-CoV-2, há um distúrbio no sistema imunológico que produz uma resposta imune desregulada que afeta o organismo como um todo (JUNAID et al., 2020). Essa resposta inflamatória sistêmica causa perda de apetite e alteração da absorção intestinal, limitando a ingestão, captação e utilização de macro e micronutrientes essenciais, levando à desnutrição. A desnutrição, por sua vez, enfraquece a regulação da inflamação, enfraquece o sistema imunológico e aumenta o risco de infecção. Além disso, a desnutrição energético-protéica e as deficiências de micronutrientes devido à baixa ingestão de nutrientes podem resultar em alterações no paladar e olfato em pessoas infectadas com COVID-19 (HOLDOWAY, 2020).

A microbiota intestinal é caracterizada por um grupo de microrganismos constituído principalmente por cepas bacterianas que possuem funções importantes

na degradação da matéria orgânica e na reciclagem de nutrientes. Um desequilíbrio qualitativo e/ou quantitativo da microbiota intestinal leva à disbiose, que é promovida pelo consumo excessivo de alimentos industrializados, adoção do modelo alimentar ocidental, exposição a agrotóxicos, uso de antibióticos e doenças crônicas prévias. Esses fatores promovem a mudança da integridade da barreira epitelial intestinal, que modula negativamente o status do sistema imunológico humano (VIEGAS et al., 2022).

A mucosa gastrointestinal funciona como uma barreira semipermeável que permite a absorção de nutrientes e o reconhecimento seletivo do sistema imunológico, limitando a passagem de antígenos e microrganismos potencialmente nocivos. Assim, os distúrbios da barreira intestinal estão associados a muitas doenças, o que reflete o crescente interesse no uso de probióticos como um novo alvo terapêutico (VANCAMELBEKE; VERMEIRE, 2017).

Os probióticos são microrganismos vivos que colonizam o intestino e têm demonstrado efeitos benéficos à saúde humana quando administrados em doses adequadas. Eles desempenham um papel importante na restauração e manutenção da microbiota que mantém a integridade intestinal. O efeito antiviral dos probióticos não é totalmente compreendido, mas foi sugerido que pode ocorrer em três mecanismos diferentes: (a) aumento da resposta imune inata; (b) reduzir a permeabilidade intestinal; e (c) afeta a resposta imune adquirida sistêmica por meio de efeitos regulatórios e anti-inflamatórios (VIEGAS et al., 2022).

A presença de SARS-CoV-2 em amostras de fezes foi associada a alterações na composição da microbiota intestinal (PASCOAL et al., 2021). Estudos mostraram que há evidências de que o vírus afeta negativamente tanto a anatomia quanto a fisiologia do trato gastrointestinal a longo prazo, prejudicando assim a microbiota intestinal. Ao mesmo tempo, uma alteração precoce na microbiota pode desempenhar um papel na patogênese da sepse e da síndrome do desconforto respiratório agudo (OLAIMAT et al., 2020).

A disbiose pulmonar mediada por lesão pulmonar aguda está associada à modulação da microbiota intestinal pela corrente sanguínea, semelhante à forma como a população da microbiota intestinal é modulada na alergia pulmonar. Como resultado, o COVID-19 causa alterações na microbiota pulmonar que modulam a

microbiota intestinal, levando a sintomas gastrointestinais.

De acordo com Tian et al. (2020), os sintomas gastrointestinais em pacientes infectados com COVID-19 podem estar associados a uma resposta imune agravada que danifica tecidos e órgãos (VIEGAS et al., 2022). Os probióticos têm efeitos anti-inflamatórios e antivirais que ajudam a regular as condições patológicas em indivíduos ao reduzir a produção de citocinas inflamatórias na mucosa intestinal e órgãos extra-intestinais, o que aumenta o interesse em identificar a conexão entre o sistema imunológico e o microbioma intestinal e o uso de microrganismos na terapia. (AKOUR, 2020).

Alguns pacientes com SARS-CoV-2 apresentavam disbiose intestinal com baixa diversidade de espécies bacterianas importantes para a microbiota, como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, que conferem imunidade fraca. Nesse grupo de pacientes, o suporte nutricional com probióticos demonstrou restaurar o equilíbrio da microbiota intestinal (OLAIMAT et al., 2020).

Como o eixo intestino-pulmão é bidirecional, ele suporta a homeostase do sistema imunológico, levando à crença de que a inflamação gastrointestinal leva à inflamação pulmonar por meio dessa relação. Esse mecanismo exato e a mudança inflamatória do intestino para os pulmões ainda não são totalmente compreendidos, mas a disbiose intestino-pulmão pode se correlacionar com lipopolissacarídeo (LPS) e ácidos graxos de cadeia curta (SCFA) (VIEGAS et al., 2022)

A circulação de células imunes e mediadores inflamatórios do trato digestivo para os pulmões ocorre através dos vasos sanguíneos e linfáticos. Dessa forma, há uma translocação de componentes e metabólitos microbianos intestinais, como LPS e SCFA, que podem causar reações inflamatórias nos pulmões. Essas conexões bidirecionais e homeostáticas desempenham um papel positivo e fundamental na reconstrução da microbiota intestinal e pulmonar e, portanto, no combate a patógenos no processo inflamatório (OLAIMAT et al., 2020).

Os probióticos têm efeito direto e indireto sobre as enzimas ECA, pois durante a fermentação dos alimentos produzem peptídeos bioativos que têm a capacidade de inibir os receptores ECA pelo bloqueio dos sítios ativos da enzima. Isso sugere que as substâncias produzidas pelos probióticos podem ser considerados possíveis bloqueadores dos receptores da ECA, que atuam como porta de entrada para o

SARS-CoV-2 atacar as células gastrointestinais, minimizando a síndrome do desconforto respiratório (VIEGAS et al., 2022).

Estudos recentes mostram efeitos colaterais pós-COVID-19 como as afecções respiratórias, neurológicas, musculoesqueléticas, cardiovascular, entre outras ainda em estudo (GOUVEA et al., 2021; MOURA, et al., 2021). Nota-se um crescente aumento de casos de síndromes isquêmicas, incluindo a isquemia mesentérica aguda (SANTOS; MENDOZA; BARBOSA, 2021).

Foram encontradas alterações nas USGs de abdome em pacientes de COVID 19, os órgãos afetados foram pâncreas, fígado, rins, vesícula biliar e intestino grosso (SANTOS et al.,2020). Portanto, o coronavírus pode causar alterações gastrointestinais importantes como ilustrado nos casos abaixo.

Segundo Barboza et al. (2021), em um relato de caso envolvendo o trato gastrointestinal, um paciente do gênero feminino, 34 anos, deu entrada no Hospital Estadual Dirceu Arcoverde, na cidade de Parnaíba - Piauí, apresentando fortes dores abdominais no quadrante inferior direito, com episódios de diarreia, náuseas e vômitos. Foram realizados vários exames de imagem, entre eles uma vídeo-íleo colonoscopia onde foi constatado a presença de uma hiperemia discreta e friabilidade de tecido, tendo como hipótese o diagnóstico de uma colite em área de cólon ascendente (Figura 3).

**Figura 3** - Imagem da vídeo-íleo-colonoscopia mostrando discretas alterações em cólon ascendente



Fonte: Barboza et al. (2021).

O uso de ultrassonografia (USG) pode ser muito útil na detecção e avaliação das alterações encontradas nos achados abdominais em pacientes com COVID-19 como: alterações no pâncreas, intestino grosso, fígado, rins e vesícula biliar. A USG com contraste também oferece uma alta possibilidade de analisar os distúrbios micro circulatórios em tempo real de uma maneira dinâmica (SANTOS et al., 2020). Alguns desses casos são mostrados na Figura 4, Figura 5 e Figura 6 a seguir.

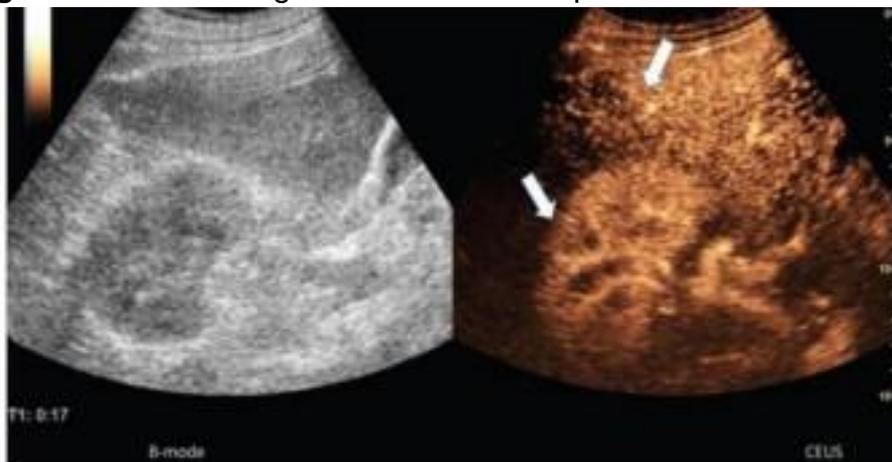
**Figura 4 – Ultrassonografia abdominal em pacientes com COVID-19**



**Legenda:** Mulher de 47 anos. Pâncreas difusamente volumoso, compatível com pancreatite severa, sem lesões focais ou cálculos biliares.

**Fonte:** Santos et al. (2020).

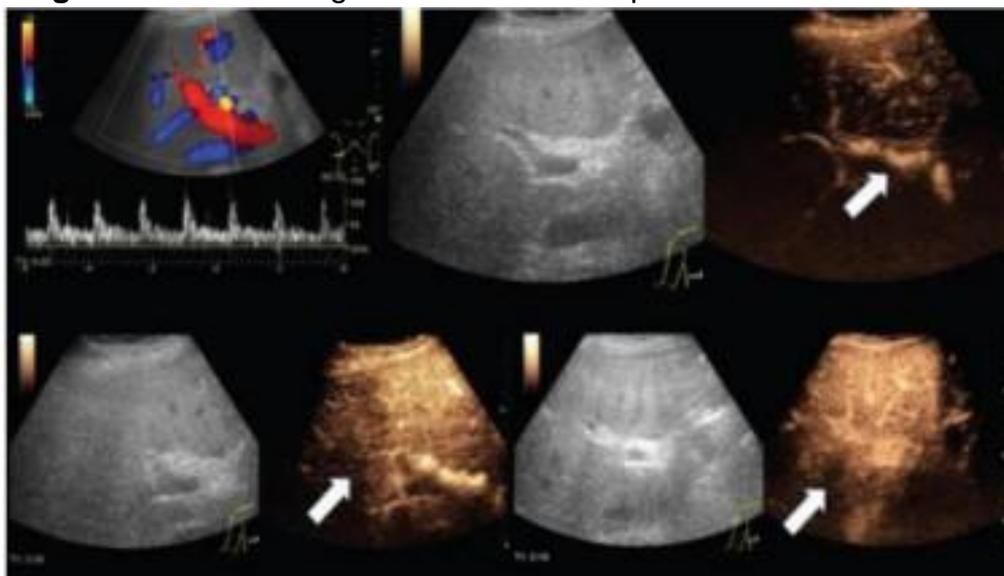
**Figura 5 - Ultrassonografia abdominal em pacientes com COVID-19**



**Legenda:** Homem, 68 anos. Imagens obtidas após a injeção em bolus de 2,4 ml de agente de contraste durante a fase arterial inicial (17 s), foi visível um realce não homogêneo do fígado e do rim direito no centro e microcirculação parcialmente reduzida no córtex (setas).

**Fonte:** Santos et al. (2020).

**Figura 6** - Ultrassonografia abdominal em pacientes com COVID-19

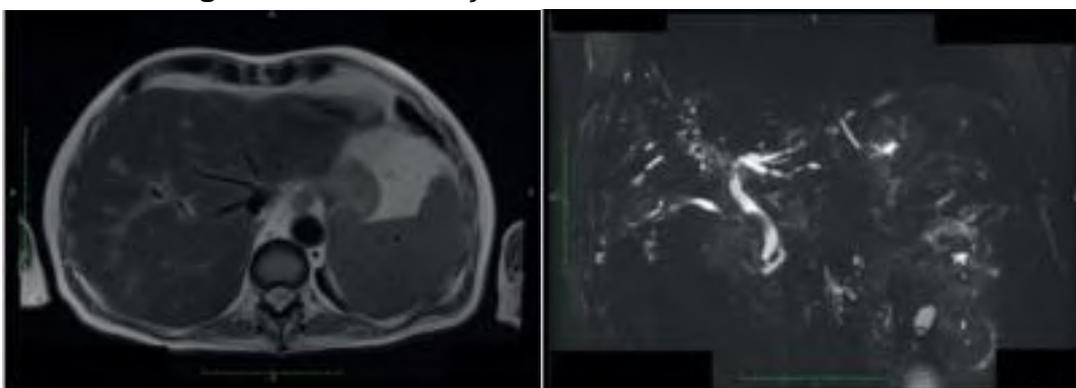


**Legenda:** Homem, 52 anos. Após a injeção em bolus de 2,4 ml de agente de contraste ultrassonográfico durante a fase arterial inicial (8 s) e a fase arterial (19 s), um realce não homogêneo do fígado, com lúmen intra-hepático irregular, com redução das artérias (setas).

**Fonte:** Santos et al. (2020).

Outro relato de caso mostrou um paciente de 63 anos previamente hígido evoluindo para colangiopatia pós COVID-19. A sua colangiorressonância apresentou dilatações com segmentos estenóticos intercalados em vias biliares intra e extra hepáticas (Figura 7), e também, em T2, edema das vias biliares, correspondendo à inflamação do parênquima adjacente (Figura 8) (GRACIOLLI et al., 2021)

**Figura 7 e 8** – Dilatações e edemas das vias biliares

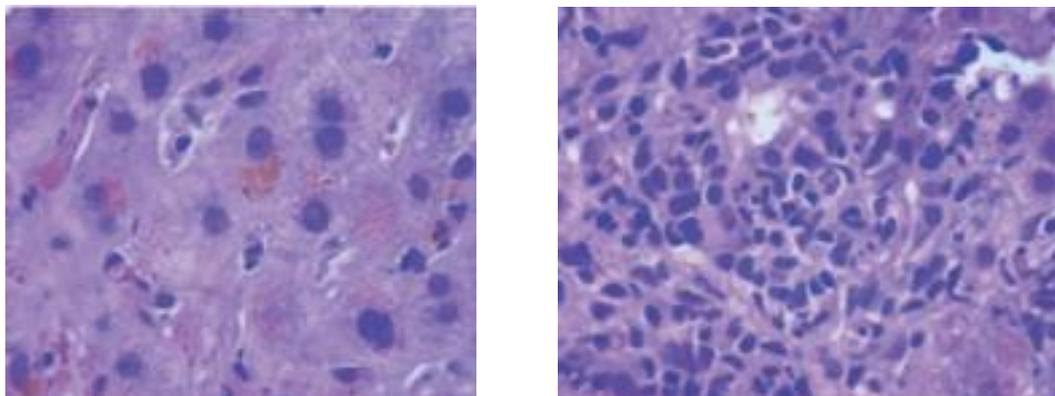


**Legenda:** A **Figura 7** apresenta T2 axial mostrando o edema circunjacente das vias biliares intra hepáticas correspondendo ao edema/inflamação do parênquima adjacente. Na **Figura 8** apresenta edema circunjacente das vias biliares intra-hepáticas correspondendo ao edema/inflamação do parênquima adjacente.

**Fonte:** Graciolli et al. (2021).

Foi realizada também uma biópsia hepática a qual demonstrou dano ao epitélio ductal e colestase intra-hepatocitária (Figura 9 e Figura 10).

**Figura 9 e 10 – Biópsia hepática**



**Legenda:** Na **Figura 9** apresenta Colestase intra-hepatocitária. Coloração H&E (hematoxilina e eosina) aumento de 60 vezes. Na **Figura 10** apresenta dano ao epitélio ductal. Coloração H&E (hematoxilina e eosina) aumento de 40 vezes.

**Fonte:** Graciolli et al. (2021).

Após estes procedimentos o paciente foi encaminhado a uma colangiografia transparieto hepática devido a suspeita de litíase intra-hepática, que mostrou cálculos intra-hepáticos, com vários pontos de estenose e distensão focal da via biliar, sendo conclusiva a hipótese diagnóstica de colangite intra-hepática (Figura 11).

**Figura 11 - Colângio transparieto hepática**



**Legenda:** Colangite intra-hepática com cálculos intra-hepáticos, com inúmeros pontos de estenose e distensão focal da via biliar.

**Fonte:** Graciolli et al. (2021).

Com base nas pesquisas bibliográficas, foi constatado que mesmo após algum tempo de cura da infecção pelo SARS-CoV-2, os pacientes apresentaram sequelas

importantes capazes de interferirem no desenvolvimento normal do corpo. Dentre as modificações relatadas estão as afecções de cunho respiratório, neurológico, cardiovascular, músculo esqueléticas além de sequelas adicionais de longo prazo que se desenvolvem após 6 semanas, excluindo sintomas e complicações que surgem durante a fase aguda da infecção (GOUVEA et al., 2021; MOURA et al., 2021; GRENDENE et al., 2021).

Os dados laboratoriais dos pacientes com COVID-19 chamam a atenção 20% dos infectados pelo novo coronavírus apresentam níveis elevados de aminotransferases, hipoproteinemia e tempo de protrombina prolongado. Os pacientes adultos com choque hiperinflamatório submetidos a antibioticoterapia apresentaram alterações importantes em determinados exames laboratoriais, que incluem a proteína C reativa, citocinas, ferritina, procalcitonina, dímeros D e triglicérides. Esses marcadores laboratoriais podem ser usados para avaliar a gravidade de uma infecção (OBA J et al., 2020).

### **3.5 Terapêutica para resolver as complicações da baixa absorção de nutrientes**

A nutrição também tem impacto positivo na função imunológica, sendo que as vitaminas e os minerais possuem função importante no suporte do sistema imune inato e adaptativo, sendo assim, a deficiência de micronutrientes pode afetar a imunidade e reduzir a capacidade do organismo de combater infecções, auxiliar no desenvolvimento e manutenção de barreiras físicas e de produzir atividade antimicrobiana (SILVA; KOPRUSZYNSKI, 2020).

Dentre as várias medidas preventivas da doença, a alimentação é fundamental, sendo refletida na manutenção e homeostasia corporal, atuando na prevenção e no tratamento de diversos quadros patológicos. Em um organismo desnutrido, o processo infeccioso é mais agressivo e promove infecção grave e até doenças crônicas. Além da alimentação, o sono, estresse, ansiedade, ausência da prática de atividades físicas são fatores que influenciam na imunidade durante o paciente pós COVID-19 (SILVA DANTAS et al., 2020).

É aconselhável fazer a triagem nutricional nas primeiras 24h de admissão do paciente quando internado em um hospital para que seja possível fazer o

planejamento nutricional. Essa triagem tem como objetivo a terapia nutricional de pacientes que estão com baixa aceitação alimentar devido aos sintomas associados ao COVID-19 como inapetência, ageusia e anosmia, afetando diretamente a aceitação alimentar. A intervenção nutricional com suplementação oral com vitaminas A, B, C, D, E e minerais como ferro, selênio e zinco, e ácidos graxos ômega-3 pode ser usado como tratamento nutricional, servindo como terapia preventiva contra a infecção pulmonar (SILVA; KOPRUSZYNSKI, 2020).

O objetivo da nutrição é oferecer um aporte adequado de energia para evitar a desnutrição e para fortalecer o sistema imunológico. A hidratação deste paciente precisa ser avaliada, sendo necessário um aporte de 2L para mulheres e 3L para homens. Na UTI, os paciente que ainda não estão intubados necessitam de suplementos nutricionais orais, caso não consigam se alimentar é necessário considerar a nutrição enteral (NE) ou se houver limitações é aconselhado a nutrição via parenteral (NP) periférica para auxiliar no alcance da meta energética e proteica.

Os nutracêuticos têm sido estudados como compostos que podem reduzir a resposta inflamatória, suprimir a disseminação viral e amortecer a sinalização pró-inflamatória nas células endoteliais que promovem esta reação inflamatória (SILVA DANTAS et al., 2020).

Sabe-se que o estado nutricional de um indivíduo influencia no funcionamento do sistema imunológico. Os compostos bioativos presentes nos alimentos ingeridos por meio de suplementação NE ou NP mostram uma resposta positiva na recuperação do quadro gripal bem como na redução do tempo de internação. Apesar dos efeitos que o SARS-CoV-2 apresenta no sistema digestivo, a nutrição enteral ainda é o melhor método de terapia nutricional, caso a ingestão oral não seja possível, pois estimula o intestino. A falta de contato da mucosa intestinal com os nutrientes podem levar à atrofia do tecido linfóide e declínio funcional do sistema imunológico, bem como a intensificação da translocação bacteriana (AGUILA et al., 2020).

Em pacientes COVID-19 com sintomas de diarreia foi proposto o uso de probióticos, a Comissão Nacional de Saúde da China definiu o seu uso para o tratamento de COVID-19 grave para amenizar a disbiose intestinal e possivelmente reduzir a translocação de infecção secundária. É importante lembrar que alguns medicamentos como antibióticos e antivirais podem levar à alteração da microbiota

intestinal, abrindo um novo alvo terapêutico em que os probióticos podem atuar (AGUILA et al., 2020).

Os probióticos têm sido recomendados como agentes antimicrobianos contra muitas bactérias patogênicas e nocivas, bem como vírus que causam infecções respiratórias. Seus efeitos antivirais diretos e indiretos são agora relatados como tendo efeitos imunológicos positivos e benefícios para a saúde. Os mecanismos de ação mais prováveis são a modulação do sistema imune inato e a melhora das reações imunes adquiridas através da ativação da secreção de imunoglobulina A (IgA), que inicia cascatas de sinalização celular que aumenta o número das placas de Peyer, neutrófilos, macrófagos, células natural killer, e linfócitos intraepiteliais e dos linfonodos mesentéricos (VIEGAS et al., 2022).

O uso de diversas cepas probióticas mostrou efeito preventivo no desenvolvimento da inflamação intestinal por meio da liberação de TNF (fator de necrose tumoral) das células epiteliais e redução da permeabilidade intestinal. Certas cepas, como *L. rhamnosus* e *Bifidobacterium bifidum*, desempenharam um papel importante na estimulação da expressão da mucina e na regulação da proliferação/apoptose de células epiteliais (INFUSINO et al., 2020). A produção induzida de muco e mucina pelo aumento da atividade das células caliciformes pode impedir a invasão do vírus através do intestino. Dessa forma, a produção de mucina pode desempenhar um papel na captura e bloqueio do vírus no intestino e na prevenção do agravamento e progressão de uma infecção viral no corpo (DIN et al., 2021).

Além disso, a importante atividade antiviral dos probióticos está relacionada à sua capacidade de modular o sistema imunológico por meio de vias anti-inflamatórias (INFUSINO et al., 2020).

Estudos mostram que os probióticos devem ser consumidos diariamente em doses de  $10^9$ - $10^{10}$  UFC para obter benefícios de saúde a longo prazo em humanos. A microencapsulação deve ser usada para proteger os probióticos contra condições adversas, como o pH ácido do estômago, e permitir que eles se acumulem em níveis satisfatórios nas mucosas intestinais (BUSTAMANTE et al., 2020).

Dentre os benefícios à saúde relacionados ao funcionamento de uma microbiota intestinal equilibrada e saudável, que podem estar associados a um

prognóstico clínico favorável de um portador de COVID-19, destacam-se: alívio de doenças alérgicas; manutenção do pH intestinal; prevenção e/ou controle de doenças cardiovasculares; redução do colesterol no sangue; melhorar a função imunológica e prevenção de infecções oportunistas e sistêmicas.

Alguns estudos sugerem que os probióticos podem ou não ter um efeito supressor em um processo inflamatório já desencadeado. Nesse cenário, os probióticos, embora inofensivos durante a inflamação induzida por infecção, atuam como moderadores da imunidade inata e promovem uma resposta imune mais eficiente e flexível para combater potenciais patógenos como o SARS-Cov-2 (DARGAHI; JOHNSON; APOSTOLOPOULOS, 2020) .

De acordo com THIBAULT et al. (2020), o cuidado nutricional em pacientes de UTI deve ser otimizado para manter a função do trato gastrointestinal, sustentar a imunidade e evitar perda severa de massa. O tratamento deve ser baseado na supressão dos sintomas e cuidados de suporte, medicado com analgésicos e antieméticos, e mantendo uma boa hidratação bem como equilíbrio eletrolítico a fim de evitar possíveis distúrbios (OGASSAWARA et al, 2021).

De acordo com MORAIS et al. (2021), somente os alimentos não irão curar o COVID-19, mas a combinação de uma boa alimentação com hábitos saudáveis pode promover melhora da saúde. O tratamento escolhido deve ser baseado na redução dos sintomas e cuidados de suporte, pois os sintomas gastrointestinais desaparecem com o tempo e não pioram na maioria dos casos. Portanto, para evitar possíveis transtornos, o bem-estar do paciente deve ser promovido com analgésicos e antieméticos, manutenção de oxigenação e hidratação adequadas e equilíbrio eletrolítico.

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Este estudo foi realizado a partir de uma revisão bibliográfica onde verificou se que o Sars-Cov-2 e os sintomas gastrointestinais possuem uma relação importante. Os estudos indicaram que os sintomas gastrointestinais podem influenciar e comprometer diretamente ou indiretamente os pulmões, e vice-versa, através da ação de células imunológicas e mediadores inflamatórios, translocações de metabólitos intestinais como LPS e SCFA, causando reações inflamatórias nos pulmões. Através

da análise dos exames laboratoriais e de imagem, pode-se notar as alterações que o Sars-Cov-2 consegue provocar no organismo, levando a várias sequelas. Observa-se também que a nutrição com a administração conjunta de probióticos são uma ótima alternativa para auxiliar no tratamento de pacientes infectados pelo coronavírus. Contudo, mais estudos precisam ser realizados para elucidar melhor a influência intestinal com o sistema imune para que sejam propostas medidas de tratamentos médicos e estratégias que sejam mais eficazes.

## REFERÊNCIAS

nutrition practices. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 35, n. 5, p. 800-805, Jun; 2020. AGUILA, E. J. T. et al. Gastrointestinal manifestations of COVID 19: impact on

Disponível em:  
<<https://aspenjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ncp.10554>> Acesso em: 22 abr. 2022.

ANTWI, J. et al. The Nutrition-COVID-19 Interplay: a Review. **Current nutrition reports**, p. 1-11, Nov; 2021. Disponível em:

<<https://link.springer.com/article/10.1007/s13668-021-00380-2>> Acesso em: 22 abr. 2022.

BARBOZA, D. L. L. et al. Apresentação atípica envolvendo o trato gastrointestinal da doença do novo coronavírus (COVID-19): relato de caso. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e55210212891-e55210212891, Fev; 2021. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/12891>> Acesso em: 22 abr. 2022.

BAUM, A. et al. Antibody cocktail to SARS-CoV-2 spike protein prevents rapid mutational escape seen with individual antibodies. **Science**, v. 369, n. 6506, p. 10141018, Jun; 2020.. Disponível em:

<<https://www.science.org/doi/full/10.1126/science.abd0831>> Acesso em: 22 abr. 2022.

BRANDÃO, S. C. S. et al. **Obesidade e risco de Covid-19: grave**. Recife: CIP, 2020. Disponível em:

<<https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/37572/1/Obesidade%20e%20risco%20de%20Covid%2019%20grave.pdf>> Acesso em: 22 abr. 2022.

BUTANTAN - Butantan inicia projeto de testagem para diagnóstico da Covid-19 em pessoas assintomáticas - São Paulo - 2021. Disponível em:

<<https://butantan.gov.br/noticias/butantan-inicia-projeto-de-testagem-para-diagnostico-da-covid-19-em-pessoas-assintomaticas>> Acesso em: 22 abr. 2022.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION et al. Potential rapid increase of Omicron variant infections in the United States. **Centers for Disease Control and Prevention**, Dec; 2021. Disponível em:

<<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/forecasting/mathematical-modeling-outbreak.html>> Acesso em: 22 abr. 2022.

CHEN, B et al. Overview of lethal human coronaviruses. **Signal transduction and targeted therapy**, v. 5, n. 1, p. 1-16, jun; 2020. Disponível em:

<<https://www.nature.com/articles/s41392-020-0190-2>> Acesso em: 22 abr. 2022.

CHERIAN, S. et al. SARS-CoV-2 spike mutations, L452R, T478K, E484Q and P681R, in the second wave of COVID-19 in Maharashtra, India. **Microorganisms**, v. 9, n. 7, p. 1542, Jul; 2021. Disponível em:

<<https://www.mdpi.com/20762607/9/7/1542>> Acesso em: 22 abr. 2022.

CUNHA, S. C. V. et al. **Terapia nutricional para prevenção, tratamento e reabilitação de indivíduos com COVID-19**. 2020. Disponível em:

<[https://repositorio.ufrn.br/bitstream/123456789/29246/5/\\_Terapia%20nutricional%20para%20preven%c3%a7%c3%a3o%2c%20tratamento%20e%20reabilita%c3%a7%c3%a3o%20de%20indiv%c3%adduos%20com%20COVID-19.pdf](https://repositorio.ufrn.br/bitstream/123456789/29246/5/_Terapia%20nutricional%20para%20preven%c3%a7%c3%a3o%2c%20tratamento%20e%20reabilita%c3%a7%c3%a3o%20de%20indiv%c3%adduos%20com%20COVID-19.pdf)> Acesso em: 22 abr. 2022.

DA SILVA, G. L.; KOPRUSZYNSKI, C. P. Assistência nutricional e dietoterápica em pacientes hospitalizados com COVID-19: uma revisão integrativa. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 12, n. 11, p. e4852-e4852, Set; 2020. Disponível em:

<<https://18.231.186.255/index.php/saude/article/view/4852>> Acesso em: 22 abr. 2022.

DANTAS, D. L. S. et al. COVID-19: conceito, etiologia e terapia nutricional. **Diálogos em Saúde**, v. 3, n. 1. jan/jun 2020. Disponível em:

<<https://periodicos.iesp.edu.br/index.php/dialogosemsaude/article/view/301/240#>> Acesso em: 22 abr. 2022.

DE MORAIS, L. R. et al. COVID-19 e o trato gastrointestinal: fisiopatologia e evolução clínica dos pacientes. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 2, p. 4556-4569, mar./apr.2021. Disponível em:

<<https://brazilianjournals.com/ojs/index.php/BJHR/article/view/25659/20402>> Acesso em: 22 abr. 2022.

DEJNIRATTISAI, W. et al. Antibody evasion by the P. 1 strain of SARS-CoV-2. **Cell**, v. 184, n. 11, p. 2939-2954. e9, Maio, 2021. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867421004281>> Acesso em: 22 abr. 2022.

DEVAUX, C. A.; ROLAIN, J-M; RAOULT, D. ACE2 receptor polymorphism:

Susceptibility to SARS-CoV-2, hypertension, multi-organ failure, and COVID-19

disease outcome. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 53, n. 3, p. 425-435, Jun; 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1684118220301092>> Acesso em: 22 abr. 2022.

EDARA, V. - V. et al. Infection and vaccine-induced neutralizing-antibody responses to the SARS-CoV-2 B. 1.617 variants. **New England Journal of Medicine**, v. 385, n. 7, p. 664-666, Ago; 2021. Disponível em: <<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmc2107799>> Acesso em: 22 abr. 2022.

FARIA, N. R. et al. Genomic characterisation of an emergent SARS-CoV-2 lineage in Manaus: preliminary findings. **Virological**, v. 372, p. 815-821, Jan; 2021. Disponível em: <[https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/81007414/Ep\\_20102-1\\_20Genomic\\_20characterisation\\_20of\\_20an\\_20emergent\\_20SARS-CoV2\\_20lineage\\_20in\\_20Manaus\\_20Genomic\\_20Epidemiology\\_20-20Virolog-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1665618216&Signature=Ma7iNhcbxcMknLpiOUPVwtSj7E94woz5XgJAEEx~2GtzgdG~3aYbFSLsDmVG01bl5PF7SvAPITqP6I5xplzOSgUvcrAf6fsyR~Dp8ocLoh9WEJb5~AUYK7bafgeTB~~~3XTtAw2K1LhaL25sazz7LP9cHdUmMY7jv5VnvFYJz4Dj~v7deR9Hq6nMutHVhD400qmo cTLGzs6qRVY2aTCF~eddMxM1T4QiRNYp3OQ1RE~iNbaMLNDaHiX~nz0aoZ6rRGDFBo9HsHG84yoG5OItKWptvmSZM3V44-fSqHr29YgD4gk7B30FZO3FdjOgEbsgXvUDGf2UWm8BDL5b1g\\_\\_&Key-PairId=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/81007414/Ep_20102-1_20Genomic_20characterisation_20of_20an_20emergent_20SARS-CoV2_20lineage_20in_20Manaus_20Genomic_20Epidemiology_20-20Virolog-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1665618216&Signature=Ma7iNhcbxcMknLpiOUPVwtSj7E94woz5XgJAEEx~2GtzgdG~3aYbFSLsDmVG01bl5PF7SvAPITqP6I5xplzOSgUvcrAf6fsyR~Dp8ocLoh9WEJb5~AUYK7bafgeTB~~~3XTtAw2K1LhaL25sazz7LP9cHdUmMY7jv5VnvFYJz4Dj~v7deR9Hq6nMutHVhD400qmo cTLGzs6qRVY2aTCF~eddMxM1T4QiRNYp3OQ1RE~iNbaMLNDaHiX~nz0aoZ6rRGDFBo9HsHG84yoG5OItKWptvmSZM3V44-fSqHr29YgD4gk7B30FZO3FdjOgEbsgXvUDGf2UWm8BDL5b1g__&Key-PairId=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)> Acesso em: 22 abr. 2022.

FERREIRA, S. P. A; SIMÕES, L. P.S; LIMA, R. N. O impacto da hipertensão em pacientes com COVID-19. **Revista Brasileira Interdisciplinar de Saúde**, Jan 2022. Disponível em: <<https://revistarebis.rebis.com.br/index.php/rebis/article/download/328/196>> Acesso em: 22 abr. 2022.

FILHO, P. F. A. **Sintomas gastrointestinais na covid-19**. Livro de Anais, p. 9. nov. 2020. Disponível em: <<https://editorapasteur.com.br/wp-content/uploads/2021/07/CSBIAD-2020-ltpdf.pdf#page=16>> Acesso em: 22 abr. 2022.

FINTELMAN-RODRIGUES, N. et al. Genetic evidence and host immune response in persons reinfecting with SARS-CoV-2, Brazil. **Emerging infectious diseases**, v. 27, n. 5, p. 1446, Maio; 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8084520/>> Acesso em: 22 abr. 2022.

FREITAS, A. R. R. et al. The emergence of novel SARS-CoV-2 variant P. 1 in Amazonas (Brazil) was temporally associated with a change in the age and sex profile of COVID-19 mortality: A population based ecological study. **The Lancet Regional Health-Americas**, v. 1, p. 100021, Set; 2021 Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2667193X21000132>> Acesso em: 22 abr. 2022.

FREITAS, A. R. R; GIOVANETTI, M; ALCANTARA, L. C. J. Emerging variants of SARS-CoV-2 and its public health implications. **InterAmerican Journal of Medicine and Health**, v. 4, Fev; 2021. Disponível em:

<<https://iajmh.com/iajmh/article/view/181>> Acesso em: 22 abr. 2022

FUENTES DÍAZ, C. F. ; TABOADA, O. Y. S. Manifestaciones gastrointestinales de la infección por el “nuevo coronavirus”. **Revista colombiana de Gastroenterología**, v. 35, p. 69-72, Dec; 2020. Disponível em:

<[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S012099572020000500069](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012099572020000500069)> Acesso em: 22 abr. 2022.

GÓMEZ, C. E.; PERDIGUERO, B.; ESTEBAN, M. Emerging SARS-CoV-2 variants and impact in global vaccination programs against SARS-CoV-2/COVID-19.

**Vaccines**, v. 9, n. 3, p. 243, Mar; 2021. Disponível em:

<<https://www.mdpi.com/2076393X/9/3/243>> Acesso em: 22 abr. 2022.

GOUVEA, A. L. V. et al. SÍNDROME PÓS-COVID-19: PRINCIPAIS AFECÇÕES E IMPACTOS NA SOCIEDADE EM FOCO. In: **Anais Colóquio Estadual de Pesquisa Multidisciplinar (ISSN-2527-2500) & Congresso Nacional de Pesquisa Multidisciplinar**. Aug; 2021.. Disponível em:

<<https://unifimes.edu.br/ojs/index.php/coloquio/article/view/1011>> Acesso em: 22 abr. 2022.

GRACIOLLI, A. M. et al. Colangiopatia pós-Covid-19: uma nova entidade clínica.

**ARTIGO ESPECIAL**, v. 65, n. 1, p. 69-73, 2021.. Disponível em:

<<https://www.amrigs.org.br/assets/images/upload/pdf/jornal/1625675724.pdf#page=>> Acesso em: 22 abr. 2022.

GRENDENE, C. S. et al. Coronavírus (covid-19): história, conhecimento atual e sequelas de longo prazo. **Revista Corpus Hippocraticum**, v. 1, n. 1, Ago; 2021.

Disponível em: <<http://189.112.117.16/index.php/revista-medicina/article/view/451>>

Acesso em: 22 abr. 2022.

GREANEY, A. J. et al. Comprehensive mapping of mutations in the SARS-CoV-2 receptor-binding domain that affect recognition by polyclonal human plasma antibodies.

**Cell host & microbe**, v. 29, n. 3, p. 463-476. e6, Mar; 2021. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1931312821000822>>

Acesso em: 22 abr. 2022.

GUAN, W-J. et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. **New England journal of medicine**, v. 382, n. 18, p. 1708-1720, Abril; 2020. Disponível em:

<<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejMoa2002032>> Acesso em: 22 abr.

2022.

HAMMING, I. et al. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis.

**The Journal of**

**Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland**, v. 203, n. 2, p. 631-637, Maio; 2004. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/path.1570>> Acesso em: 22 abr. 2022.

HOFFMANN, M. et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. **cell**, v. 181, n. 2, p. 271-280. e8, Abril; 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867420302294>> Acesso em: 22 abr. 2022.

HOLDOWAY, A. Nutritional management of patients during and after COVID-19 illness. **British journal of community nursing**, v. 25, n. Sup8, p. S6-S10, Set; 2020. Disponível em: <<https://www.magonlinelibrary.com/doi/abs/10.12968/bjcn.2020.25.Sup8.S6>> Acesso em: 22 abr. 2022.

JUNAID, K. et al. Effective immune functions of micronutrients against Sars-Cov-2. **Nutrients**, v. 12, n. 10, p. 2992, Set; 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2072-6643/12/10/2992>> Acesso em: 22 abr. 2022.

KAAFARANI, H. M. A et al. Gastrointestinal complications in critically ill patients with COVID-19. **Annals of surgery**, v. 272, n. 2, p. e61, Aug; 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7268843/>> Acesso em: 22 abr. 2022.

KERSHAW, J. C.; MATTES, R. D. Nutrition and taste and smell dysfunction. **World Journal of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery**, v. 4, n. 1, p. 3-10, Mar; 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095881118300209>> Acesso em: 22 abr. 2022.

LAMERS, M. M. et al. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. **Science**, v. 369, n. 6499, p. 50-54, Maio; 2020. Disponível em: <<https://www.science.org/doi/full/10.1126/science.abc1669>> Acesso em: 22 abr. 2022.

LEE, D. J. et al. Self-reported anosmia and dysgeusia as key symptoms of coronavirus disease 2019. **Canadian Journal of Emergency Medicine**, v. 22, n. 5, p. 595-602, Jun; 2020. Disponível em: <<https://www.cambridge.org/core/journals/canadian-journal-of-emergency-medicine/article/selfreported-anosmia-and-dysgeusia-as-key-symptoms-of-covid19/CC68A98A0719E1A641E1E945A9876F76>> Acesso em: 22 abr. 2022.

LEI, H-Y. et al. Potential effects of SARS-CoV-2 on the gastrointestinal tract and liver. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 133, p. 111064, Jan; 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332220312567?via%3Di%3Dhub>> Acesso em: 22 abr. 2022.

LEUNG, K. et al. Early transmissibility assessment of the N501Y mutant strains of SARS-CoV-2 in the United Kingdom, October to November 2020. **Eurosurveillance**, v. 26, n. 1, p. 2002106, Jan; 2021. Disponível em:

<<https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2020.26.1.2002106?crawler=true>> Acesso em: 22 abr. 2022.

LIU, C. et al. Reduced neutralization of SARS-CoV-2 B. 1.617 by vaccine and convalescent serum. **Cell**, v. 184, n. 16, p. 4220-4236. e13, Ago; 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867421007558>> Acesso em: 22 abr. 2022.

LIU, P. et al. Dynamic surveillance of SARS-CoV-2 shedding and neutralizing antibody in children with COVID-19. **Emerging microbes & infections**, v. 9, n. 1, p. 1254-1258, Abril; 2020. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/22221751.2020.1772677>> Acesso em: 22 abr. 2022.

MESQUITA, L. B. L. et al. Implicações gastrointestinais da COVID-19: Gastrointestinal Implications of COVID-19. **Archives of Health**, v. 2, n. 4, p. 754-757, jul. 2021. Disponível em: <<https://latinamericanpublicacoes.com.br/ojs/index.php/ah/article/download/481/458>> Acesso em: 22 abr. 2022.

MOURA, D. L. et al. Sequelas da COVID-19 Evidência Atual. Maio; 2021. Disponível em: <<https://rihuc.huc.min-saude.pt/handle/10400.4/2321>> Acesso em: 22 abr. 2022.

MICHELON, C. COVID, EDIÇÃO ESPECIAL. Principais variantes do SARS-CoV-2 notificadas no Brasil. **RBAC**, v. 53, n. 2, p. 109-116, Abril; 2021. Disponível em: <[http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2021/10/RBAC-vol-53-22021\\_artigo01.pdf](http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2021/10/RBAC-vol-53-22021_artigo01.pdf)> Acesso em: 22 abr. 2022.

NELSON, G. et al. Molecular dynamic simulation reveals E484K mutation enhances spike RBD-ACE2 affinity and the combination of E484K, K417N and N501Y mutations (501Y. V2 variant) induces conformational change greater than N501Y mutant alone, potentially resulting in an escape mutant. **BioRxiv**, Jan; 2021. Disponível em: <<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.01.13.426558v1.abstract>> Acesso em: 22 abr. 2022.

NONAKA, C. KV et al. Genomic evidence of SARS-CoV-2 reinfection involving E484K spike mutation, Brazil. **Emerging infectious diseases**, v. 27, n. 5, p. 1522, Maio; 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8084516/>> Acesso em: 22 abr. 2022.

OBA, J. et al. Sintomas gastrintestinais e abordagem nutricional durante a pandemia de COVID-19: guia prático para pediatras. **Einstein (São Paulo)**, v. 18, maio 2020. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/eins/a/BqFWbtW9BSMNjKFy5ZqqzPS/?format=pdf&lang=pt>  
Acesso em: 22 abr. 2022.

OGASSAWARA, M. Y. et al. Sintomas gastrointestinais em pacientes com COVID-19: relação com a gravidade e complicações da doença. **Revista Eletrônica Acervo Científico**, v. 27, p. e7817-e7817, jun. 2021. Disponível em: <https://acervomais.com.br/index.php/cientifico/article/view/7817/4952> Acesso em: 22 abr. 2022.

OLAIMAT, Amin N. et al. The potential application of probiotics and prebiotics for the prevention and treatment of COVID-19. npj **Science of Food**, v. 4, n. 1, p. 1-7, 2020.. Disponível em: [https://www-nature-com.translate.goog/articles/s41538-020-00078-9?error=cookies\\_not\\_supported&code=57f0a841-654a-408a-9c7b-62cb30f24762&\\_x\\_tr\\_sl=auto&\\_x\\_tr\\_tl=en&\\_x\\_tr\\_hl=pt-BR&\\_x\\_tr\\_pto=wapp](https://www-nature-com.translate.goog/articles/s41538-020-00078-9?error=cookies_not_supported&code=57f0a841-654a-408a-9c7b-62cb30f24762&_x_tr_sl=auto&_x_tr_tl=en&_x_tr_hl=pt-BR&_x_tr_pto=wapp) Acesso em: 22 abr. 2022.

SANTOS, I. A.; MENDOZA, WINSTON A. R.; BARBOSA, D. A. Isquemia Mesentérica como consequência de infecção por COVID-19: 3 relatos de caso. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 1, p. 1694-1705, Jan; 2021. Disponível em: <https://brazilianjournals.com/ojs/index.php/BJHR/article/view/23569> Acesso em: 22 abr. 2022.

SANTOS, J. C.; PASSOS, G. A. The high infectivity of SARS-CoV-2 B. 1.1. 7 is associated with increased interaction force between Spike-ACE2 caused by the viral N501Y mutation. **BioRxiv**, p. 2020.12. 29.424708, Jan; 2021. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.12.29.424708v1.abstract> Acesso em: 22 abr. 2022.

SANTOS, R. S. et al. Achados ultrassonográficos abdominais em pacientes com COVID-19. Set; 2020. Disponível em: [https://sbus.org.br/congresso/2020/wp-content/themes/congresso\\_sbus/assets/img/trabalho-Congresso-2020-15983801325f455864f39c2.pdf](https://sbus.org.br/congresso/2020/wp-content/themes/congresso_sbus/assets/img/trabalho-Congresso-2020-15983801325f455864f39c2.pdf) Acesso em: 22 abr. 2022.

SEAH, I.; SU, X.; LINGAM, G. Revisiting the dangers of the coronavirus in the ophthalmology practice. **Eye**, v. 34, n. 7, p. 1155-1157, Jul; 2020. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41433-020-0790-7> Acesso em: 22 abr. 2022.

SECRETARIA DA SAÚDE DO PARANÁ - **Panorama da COVID-19 - PARANÁ.2022.** Disponível em: [https://www.saude.pr.gov.br/sites/default/arquivos\\_restritos/files/documento/202204/informe\\_epidemiologico\\_29\\_04\\_2022.pdf](https://www.saude.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/202204/informe_epidemiologico_29_04_2022.pdf) Acesso em: 22 abr. 2022.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE - Coronavírus - Painel de Controle, BRASIL - 2022. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br/> Acesso em: 29/04/22  
SENDER, R. et al. The total number and mass of SARS-CoV-2 virions. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 118, n. 25, p. e2024815118, Maio 2021.

Disponível em: <<https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.2024815118>> Acesso em: 22 abr. 2022.

SESA - Por quanto tempo alguém com Covid-19 transmite o vírus? Infectologista da Sesa explica - Ceará - Mar; 2021. Disponível em: <<https://www.saude.ce.gov.br/2021/03/16/por-quanto-tempo-alguem-com-covid-19transmite-o-virus-infectologista-da-sesa-explica/>> Acesso em: 22 abr. 2022.

SILVA, F. A. F. et al. COVID-19 gastrointestinal manifestations: a systematic review. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 53, 2020. nov. 2020. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/dVzFRL3QFwp8nN6g4q3Jzzn/?format=pdf&lang=en>> Acesso em: 22 abr. 2022.

SUPASA, P. et al. Reduced neutralization of SARS-CoV-2 B. 1.1. 7 variant by convalescent and vaccine sera. **Cell**, v. 184, n. 8, p. 2201-2211. e7, Abril; 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867421002221>> Acesso em: 22 abr. 2022.

TEGALLY, H. et al. Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Africa. **MedRxiv**, Dec; 2020. Disponível em: <<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.12.21.20248640v1>> Acesso em: 22 abr. 2022.

THIBAULT, R. et al. Nutrition of the COVID-19 patient in the intensive care unit (ICU): a practical guidance. **Critical Care**, v. 24, n. 1, p. 1-8, Jul; 2020. Disponível em: <<https://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13054-020-03159-z>> Acesso em: 22 abr. 2022.

UZUNIAN, A. Coronavirus SARS-CoV-2 and Covid-19. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 56, Set; 2020. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/jbpml/a/Hj6QN7mmmKC4Q9SNNt7xRh/?format=html&lang=en>> Acesso em: 22 abr. 2022.

VOLOCH, C. M. et al. Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2 lineage from Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of virology**, v. 95, n. 10, p. e00119-21, Abril; 2021. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/JVI.00119-21>> Acesso em: 22 abr. 2022.

WANG, P. et al. Increased resistance of SARS-CoV-2 variant P. 1 to antibody neutralization. **Cell host & microbe**, v. 29, n. 5, p. 747-751. e4, Maio; 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1931312821001839>> Acesso em: 22 abr. 2022.

WANG, Z. et al. mRNA vaccine-elicited antibodies to SARS-CoV-2 and circulating variants. *Nature*, v. 592, n. 7855, p. 616-622, fev; 2021. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41586-021-03324-6>> Acesso em: 22 abr. 2022.

ZARRILLI, G. et al. The immunopathological and histological landscape of COVID 19-mediated lung injury. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 2, p. 974, Jan; 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/22/2/974>> Acesso em: 22 abr. 2022.

ZHOU, D. et al. Evidence of escape of SARS-CoV-2 variant B. 1.351 from natural and vaccine-induced sera. **Cell**, v. 184, n. 9, p. 2348-2361. e6, Abril; 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867421002269>> Acesso em: 22 abr. 2022.

## OZONIOTERAPIA E SEUS BENEFÍCIOS DA SAÚDE À ESTÉTICA

### OZONE THERAPY AND ITS HEALTH BENEFITS TO AESTHETICS

Adriana Vaz Scremim  
Elisângela Gazzola Ramos Scremin  
Larissa Juliani Sanches

#### RESUMO

Assim como em nosso planeta, a função do ozônio na medicina é a mesma, a de proteção à vida! Sua formação se dá naturalmente através da ação dos raios UV ou por meio de aparelhos geradores que irão fazer a conversão de oxigênio (O<sub>2</sub>) em ozônio (O<sub>3</sub>). A ozonioterapia pode ser utilizada em inúmeras áreas clínicas, podendo ser aplicada por via tópica ou sistêmica, é uma alternativa no tratamento de diversas doenças crônicas, devido aos seus efeitos antioxidantes e bactericidas. Atualmente, a ozonioterapia tem se mostrado promissora na área da estética com vários benefícios, além de ser considerada uma técnica segura por apresentar riscos mínimos, uma vez que o ozônio é uma biomolécula e não possui poder de causar danos ao nosso organismo e ser usado para a manutenção de certas funções orgânicas. Levando em consideração a crescente procura pela ozonioterapia e a sua importância, o presente trabalho tem o objetivo de contextualizar a ozonioterapia, abordando sua prática tanto na saúde como na estética, pontuando seus benefícios e contra indicações. Para isso, será realizado um levantamento bibliográfico minucioso, esperamos apontar as vantagens e possíveis desvantagens da ozonioterapia, a fim de esclarecer dúvidas sobre a sua utilização.

**Palavras-chaves:** ozonioterapia; saúde; estética.

#### ABSTRACT

Just like on our planet, the function of ozone in medicine is the same, that of protecting life! Its formation occurs naturally through the action of UV rays or through generating devices that will convert oxygen (O<sub>2</sub>) into ozone (O<sub>3</sub>). Ozone therapy can be used in numerous clinical areas, and can be applied topically or systemic, it is an alternative in the treatment of several chronic diseases, due to its antioxidant and bactericidal effects. Currently, ozone therapy has shown promise in the area of aesthetics with several benefits, in addition to being considered a safe technique for presenting minimal risks, since ozone is a biomolecule and has no power to cause damage to our body and be used to the maintenance of certain organic functions. Taking into account the growing demand for ozone therapy and its importance, the present work aims to contextualize ozone therapy, approaching its practice in both health and aesthetics, punctuating its benefits and contraindications. For this, a detailed bibliographic survey will be carried out, we hope to point out the advantages and possible disadvantages of ozone therapy, in order to clarify doubts about its use.

**Keywords:** ozone therapy; health; aesthetics.

## 1 INTRODUÇÃO

O ozônio foi descoberto em 1840 pelo pesquisador alemão Dr. Christian Friedrich Schoenbein, que observou um odor muito característico quando submetia o oxigênio a uma descarga elétrica (ABOZ, 2021).

O ozônio encontra-se na natureza em estado gasoso, é considerado um gás muito reativo. Pode ser produzido por meio de uma descarga elétrica, por aparelhos geradores ou até mesmo naturalmente através da ação dos raios ultravioletas (UV) (KAWAHARA, 2020).

A formação do ozônio se dá quando as moléculas de oxigênio em sua forma diatômica ( $O_2$ ) se rompem e seus átomos são separados e recombina-se individualmente com outras moléculas de oxigênio, na forma triatômica ( $O_3$ ) do oxigênio (ABOZ, 2021).

É importante ressaltar que o ozônio é um gás altamente instável, isso significa que o mesmo se recompõe em oxigênio novamente, sua meia-vida é de 40 minutos a 20 °C e cerca de 140 min a 0 °C (ABOZ, 2021).

Podemos dizer que a função do ozônio tanto na medicina quanto em nosso planeta é a mesma: proteção da vida. É um dos gases mais importantes na eletrosfera, forma uma camada protetora que filtra a energia UV incidida sobre a Terra e que causa efeitos nocivos aos seres humanos (ABOZ, 2021).

A utilização do ozônio para finalidades médicas existe desde 1885, e no ano de 1929 o médico Charles J. Kenworth publicou seus estudos em um livro onde ele descreveu 114 enfermidades tratadas com a ozonioterapia (KAWAHARA, 2020).

A técnica de ozonioterapia é capaz de promover diversos benefícios, tanto locais como sistêmicos, a forma de administração pode promover o reequilíbrio e regulação das funções biológicas e fisiológicas. Hoje em dia já podemos observar a utilização da técnica de ozonioterapia em tratamentos de enfermidades inflamatórias, infecciosas e isquêmicas. É devido a esses benefícios que atualmente a ozonioterapia é bastante utilizada em inúmeros procedimentos estéticos dermatológicos (LIMA, 2020).

Mesmo não sendo algo recente e havendo vários estudos, a técnica sofre com o ceticismo em relação a sua eficácia, e isso se dá pelo desconhecimento e

incompreensão dos mecanismos desencadeados pelo ozônio. Devido a esses fatores, esse trabalho tem como principal objetivo desmistificar e informar sobre o uso da ozonioterapia na área da estética e da saúde, bem como apontar os principais benefícios do uso da terapia. (LIMA, 2020)

## **2 JUSTIFICATIVA**

A ozonioterapia é uma técnica capaz de promover benefícios sistêmicos pois atua sobre a regulação fisiológica e promove o reequilíbrio das funções biológicas. No entanto, apesar de possuir inúmeros benefícios, é recente o interesse da comunidade em relação ao seu uso. Por esse motivo, esse trabalho visa esclarecer o uso da ozonioterapia tanto em tratamentos de naturezas inflamatórias, infecciosas e isquêmicas, quanto em procedimentos estéticos, como tratamento para gordura localizada, celulite, flacidez e afecções dermatológicas.

## **3 OBJETIVO GERAL**

Contextualizar a história da ozonioterapia, apresentar os principais benefícios da utilização na saúde e na estética, informando a sociedade sobre o uso seguro e eficaz do ozônio.

### **3.1 Objetivos Específicos**

- Abordar os principais benefícios do uso da ozonioterapia.
- Apontar os riscos e as contra indicações do uso do ozônio.
- Mostrar as formas de aplicação do ozônio.
- Identificar a importância da ozonioterapia nos tratamentos de patologias associadas à pele.
- Entender os benefícios da ozonioterapia em procedimentos estéticos.
- Abordar os benefícios da ozonioterapia em diferentes patologias.
- Estimular os estudos no Brasil sobre o assunto.

## 4 MÉTODOS

O trabalho de conclusão de curso foi desenvolvido com base em revisão bibliográfica do tipo narrativa sobre ozonioterapia na saúde e na estética. Os artigos utilizados foram encontrados nas plataformas de pesquisa PubMed, Scielo, Google Acadêmico e selecionados a partir dos últimos 10 anos.

## 5 REVISÃO DE LITERATURA

### 5.1 História da Ozonioterapia

Em 1840 o pesquisador alemão Dr. Christian Friedrich Schoenbein descobriu o gás ozônio, ele observou um odor característico quando submetia o oxigênio a uma descarga elétrica e então o chamou de “ozein”, que em grego significa “aquilo que cheira”. (ABOZ, 2021).

Em 1857 um gerador de alta frequência foi desenvolvido pelo físico Dr. Werner Von Siemens, o aparelho por meio de descargas elétricas formava o gás ozônio em átomos de oxigênio (ABOZ, 2021).

A utilização do ozônio para finalidades médicas existe desde 1885, estudos realizados por Charles J. Kenworth membro da Sociedade Médica da Flórida foram publicados em um livro no ano de 1929 com título “Ozone and its therapeutic actions” onde ele descreveu diferentes enfermidades tratadas com a ozonioterapia (KAWAHARA, 2020).

Estudos apontam que antes mesmo da descoberta da penicilina (1928) o ozônio era eficaz no combate das infecções bacterianas (KAWAHARA, 2020). Uma publicação na revista “The Lancet” mostra que durante a Primeira Guerra Mundial médicos alemães e ingleses fizeram uso do ozônio para tratar ferimentos dos soldados (ABOZ, 2021). Indicando que desde o século XIX a ozonioterapia já era usada no combate de bactérias e germes na pele humana ferida durante a guerra.

O alemão e doutor em medicina Hans H. Wolff dedicou sua vida à pesquisa e à aplicação do ozônio, e em 1979, um ano depois de sua morte, foi publicado seu livro intitulado “O ozônio medicinal” e no qual relata toda sua pesquisa e prática médica do uso da terapia de ozônio. Foi ele quem fundou a Sociedade Médica Alemã e Ozônio

que mais tarde foi renomeada Sociedade Médica para Aplicação Preventiva e Terapêutica do Ozônio (ABOZ, 2021).

Aqui no Brasil em 1975, o médico Heinz Konrad deu início à prática de ozonioterapia em sua clínica, onde trabalha até hoje. Outra personagem importante para a ozonioterapia no Brasil foi o Dr. Edison de Cezar Philippi, que em meados dos anos 90 levou a prática para Santa Catarina, proporcionando a difusão da ozonioterapia em congressos e cursos (ABOZ, 2021).

Tanto na medicina quanto em nosso planeta o ozônio tem a mesma função que é a proteção da vida. Um dos gases mais importantes na eletrosfera é o ozônio, ele forma uma camada protetora que age como um filtro de energia UV e cerca toda a Terra (ABOZ, 2021).

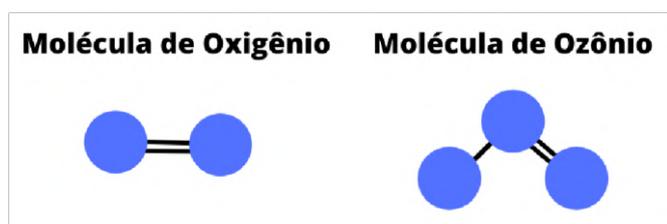
Sua função básica é proteger os humanos dos efeitos nocivos da radiação ultravioleta. O ozônio ocorre em menos de  $20 \mu\text{g}/\text{m}^3$  da superfície da Terra em concentrações que são perfeitamente compatíveis com a vida (ELVIS; EKTA 2011).

## 5.2 Composição do Ozônio

O ozônio é um gás extremamente reativo, produzido por meio de uma descarga elétrica ou por meio da radiação ultravioleta. (KAWAHARA, 2020). Segundo Elvis e Ekta (2011), o gás é incolor, de odor acre e explosivo na forma líquida ou sólida, com meia-vida de 40 min a  $20^\circ\text{C}$  e cerca de 140 min a  $0^\circ\text{C}$ .

A composição do gás se dá quando as moléculas de oxigênio se rompem e seus átomos são separados e se recombina individualmente com outras moléculas de oxigênio, então o ozônio nada mais é que a forma triatômica ( $\text{O}_3$ ) do oxigênio que possui forma diatômica ( $\text{O}_2$ ) (figura 1) (ABOZ, 2021). O ozônio pode ser formado tanto naturalmente através da ação dos raios UV tanto por aparelhos geradores que irão fazer a conversão de  $\text{O}_2$  em  $\text{O}_3$ (figura 2) (ABOZ, 2021).

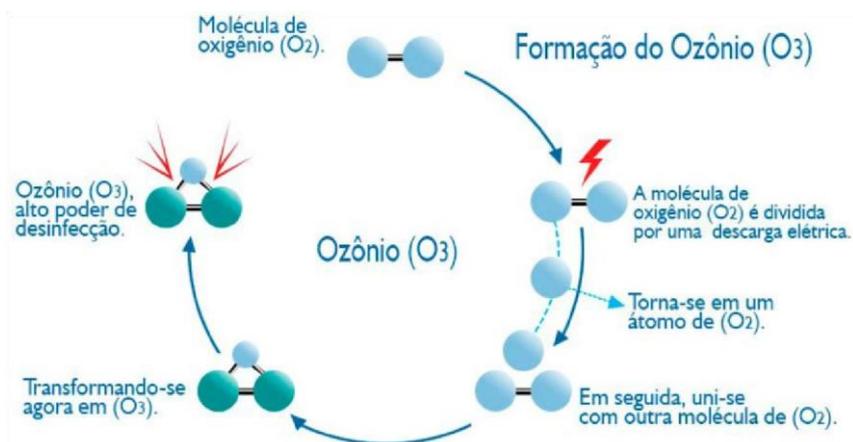
**Figura 1** - Representação da molécula de oxigênio e de ozônio



É possível observar que a molécula de oxigênio possui dois átomos de oxigênio enquanto que a molécula de ozônio possui três átomos de oxigênio.

Fonte: <<https://www.blogs.unicamp.br>> Acesso em 23/02/2022

**Figura 2** - Representação da formação da molécula de ozônio



É possível observar que a partir da reorganização da molécula de oxigênio é formada a molécula de ozônio.

Fonte: <<https://tratamentodeagua.com.br>> Acesso em 23/02/2022 às 23:07.

A geração do ozônio por aparelhos se dá em um aparelho chamado de gerador de ozônio medicinal (figura 3), onde é colocado a mistura de dois gases, o ozônio a 5% e o oxigênio a 95%. Através de uma carga elétrica de 15 mil volts criada pelo aparelho, o oxigênio puro medicinal que é composto de dois átomos se transforma então em ozônio medicinal, que contém um átomo a mais de oxigênio (Inipe, 2020).

Aparelhos geradores de ozônio de diversas marcas e com ANVISA.

**Figura 3 - Aparelhos geradores de ozônio**



É possível observar alguns aparelhos geradores de ozônio de marcas diferentes.

**Fonte:** <https://www.bcmed.com.br>

## 5.5 Difusão da Técnica

A técnica começou na Alemanha e na União Soviética durante a Primeira Guerra Mundial, acabou se difundindo pela Europa, China e América. Entretanto apenas na Rússia, Cuba, Espanha e Itália que a utilização da ozonioterapia é legalizada (ANZOLIN; BERTOL, 2018).

Nos países desenvolvidos a ozonioterapia já é utilizada a séculos, com comprovação de seus benefícios por meio de inúmeros estudos, as propriedades medicinais do ozônio são excelentes (ABOZ, 2021)

Apesar de parecer uma técnica recente, o uso da ozonioterapia principalmente na estética começou a bastante tempo na Rússia com o professor Caquetti, que trouxe a técnica para o Brasil (Inipe, 2020). Aqui no Brasil a técnica ainda é pouco difundida, são poucos os profissionais que se especializaram nesta área. Porém, esse contexto vem se modificando nos últimos anos, devido a popularidade da ozonioterapia estética e por conta das suas inúmeras vantagens houve um aumento na procura dos profissionais (INIPE, 2020).

## 5.6 Ozonioterapia

A ozonioterapia consiste em qualquer técnica terapêutica que se utiliza o gás ozônio para o tratamento de doenças. A princípio as propriedades do gás tem ação na neutralização do estresse oxidativo presente nas enfermidades (LIMA, 2020). No entanto, é preciso levar em consideração a estimulação paradoxal do ozônio, que apesar de ser uma molécula oxidante ela é capaz de aumentar as propriedades antioxidantes das estruturas afetadas por sua atividade (VALDENASSI *et al.*, 2016). De forma sistêmica o gás é capaz de interagir com fosfolipídios presentes nas membranas, promovendo a regulação fisiológica e reequilíbrio das funções biológicas (LIMA, 2020).

Os efeitos benéficos do ozônio são observados em mais de 250 tipos de enfermidades de naturezas inflamatórias, infecciosas e isquêmicas, como por exemplo: aterosclerose, diabetes, infecções virais e bacterianas, câncer, feridas, queimaduras, úlceras diabéticas, entre outras. Além disso, a ozonioterapia também mostrou efeitos benéficos associado a procedimentos estéticos, no tratamento de gordura localizada, celulite, flacidez e queda de cabelo (LIMA, 2020).

A ozonioterapia muitas vezes é comparada com a câmara hiperbárica de oxigênio (OHB). A OHB é uma modalidade terapêutica que oferece oxigênio puro (100%) em um ambiente pressurizado a um nível acima da pressão atmosférica, e a ozonioterapia é uma mistura gasosa de cerca de 95% de oxigênio e não mais que 5% de ozônio (ANZOLIN, 2018).

O mecanismo de ação são distintos, na ozonioterapia, o ozônio desencadeia uma série de mecanismos que levam à normalização da oferta de oxigênio por vários dias com consequentes efeitos, ou seja, pode corrigir doenças ligadas à isquemia, infecções, retardo na cicatrização e estresse oxidativo. A ozonioterapia apresenta um efeito mais prolongado e potente quando comparado a OHB, porém é necessário entender quando cada técnica deve ser aplicada. (ANZOLIN, 2018).

O ozônio é uma molécula mais pesada e 10 vezes mais solúvel em água do que o oxigênio, e isso é importante para entender a rapidez com que ocorrem suas reações. Ao entrar em contato com a água do plasma, enquanto o oxigênio tem baixíssima solubilização e satura apenas a hemoglobina, que é parcialmente

oxigenada, o ozônio reage instantaneamente com diferentes moléculas redutoras como ácidos graxos insaturados (VALDENASSI, 2016).

É no plasma e nos fluidos intersticiais que o ozônio se esgota após ter entrado contato com uma ampla variedade de biomoléculas. A estimulação não atua apenas nos eritrócitos, mas, ao entrar em contato com os leucócitos, determina um aumento na fagocitose (VALDENASSI, 2016).

Após anos de pesquisa e prática clínica apontando os benefícios da oxigenoterapia para diferentes fins, ainda há muito o que se descobrir revelando-se uma área repleta de perspectivas e de novas possibilidades. (VALDENASSI *et al.*, 2016).

Lima (2020), mostrou que a ozonioterapia é uma técnica promissora, com resultados seguros, além de apresentar baixo custo. Todos esses fatores são satisfatórios contribuem para sua implementação no SUS, pois trata uma variedade de forma segura e com custo baixo. Por esse motivo, desde de 21 de março de 2018, pela portaria N° 702, a ozonioterapia é considerada como uma das modalidades de Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares - PNPIC.

O ozônio não é um fármaco e de maneira geral não interage com outros fármacos de forma direta. No entanto, se for utilizado antes da administração do fármaco pode restabelecer a homeostase celular pela ação do ozônio, promovendo a otimização do fármaco e conseqüentemente reduzindo os efeitos colaterais. (KAWAHARA, 2020).

Um fato desfavorável em relação à técnica de ozonioterapia é por parte das indústrias farmacêuticas e hospitalares, que não desejam a sua regulamentação, isso devido a interesses econômicos, já que a técnica apresenta um baixo custo e sem grandes retornos financeiros escassos para os investidores (LIMA, 2020).

Em suma, as controvérsias e até mesmo o ceticismo em relação ao uso da técnica de ozonioterapia em parte são decorrentes do desconhecimento e da incompreensão dos mecanismos bioquímicos e fisiológicos desencadeados pelo ozônio (KAWAHARA, 2020).

## 5.7 Efeitos Fisiológicos do Ozônio

Uma das maiores vantagens da terapia com ozônio é a prevenção do estresse oxidativo e também a normalização dos níveis de peróxido orgânico que ativam a superóxido dismutase (ANZOLIN; BERTOL, 2018).

Segundo Cuccio e Franzini (2016), a oxigenoterapia, graças às suas habilidades em melhorar as propriedades biológicas da microcirculação, as alterações imunomoduladoras e anti inflamatórias, surge como coadjuvante e é um método válido, sendo também uma alternativa aos protocolos convencionais.

O ozônio pode causar risco de embolia se for injetado diretamente pela via intravenosa, sensação de queimadura nos olhos, dificuldade em respirar e efeitos como rinite, náuseas, vômitos, problemas cardíacos, problemas no trato respiratório e irritação (ANZOLIN; BERTOL, 2018).

Segundo Morette (2011), a inalação direta do gás ozônio (0,1 a 1 ppm) pode ser tóxica para o trato respiratório superior, causando irritação das vias aéreas superiores, rinite, dores de cabeça e, ocasionalmente, náusea e vômito.

As desvantagens tem relação com a possibilidade da oxidação em excesso e a geração de radicais livres e peroxidação de lipídios, isso alteraria a permeabilidade da membrana e resultaria numa lesão celular com possibilidade de evoluir para morte celular (ANZOLIN; BERTOL, 2018).

Assim, como para todos os medicamentos, a diferença entre a dose tóxica e a dose terapêutica se dá por meio da concentração que foi administrada, ou seja, pela da quantidade de  $H_2O_2$  produzida (KAWAHARA, 2020). Com concentrações de  $O_3$  variando entre 20 e 40 mcg/ml de sangue, a chamada “janela terapêutica”, a geração, a difusão e a redução de  $H_2O_2$  que ocorre será sempre extremamente transitória (KAWAHARA, 2020).

Deve-se entender que muitas enfermidades podem se resumir a uma etiopatogenia produzida por lesões celulares ocasionadas por fatores como: privação de oxigênio (hipóxia ou anóxia), isquemia, agentes físicos, agentes químicos, agentes infecciosos, reações imunológicas, defeitos genéticos e alterações nutricionais (KAWAHARA, 2020).

Os mecanismos celulares envolvidos nessas lesões seriam: depleção do ATP,

lesão mitocondrial, influxo de cálcio para o citosol e perda da homeostase do cálcio, acúmulo de radicais livres do oxigênio e defeito na permeabilidade das membranas (KAWAHARA, 2020).

Muitos dos estímulos celulares que o ozônio promove revertem ou atenuam justamente esses mecanismos, levando ao restabelecimento da homeostase celular (KAWAHARA, 2020, BOCCI, 2021).

Há três possíveis mecanismos de ação para o ozônio:

1° - está relacionado à inativação de micro-organismos. Nas bactérias há interrupção da integridade do envelope celular através da oxidação dos fosfolipídios e lipoproteínas. Nos fungos, o ozônio inibe o crescimento celular. Nos vírus, o ozônio lesiona o capsídeo viral e perturba o ciclo reprodutivo ao interromper o contato vírus-célula com a peroxidação (ANZOLIN, 2018).

2° - está ligado ao estímulo do metabolismo do oxigênio. A terapia com ozônio provoca um aumento na taxa de glicólise dos glóbulos vermelhos, elevando a estimulação do 2,3-difosfoglicerato, o que leva a um aumento na quantidade de oxigênio liberado para os tecidos. Ocorre uma estimulação da produção de enzimas que atuam como sequestrantes de radicais livres e protetores da parede celular, e de vasodilatadores, como a prostaciclina (ANZOLIN, 2018).

3° - está ligado à ativação do sistema imunológico. O ozônio administrado em concentrações entre 30 e 55µg/mL aumenta a produção de interferon e diminui o fator de necrose tumoral e de interleucina-2, diminuindo a intensidade das reações imunológicas subsequentes (ANZOLIN, 2018).

Por ser extremamente oxidante e estável, o ozônio retorna a sua forma de oxigênio com facilidade, tornando-se um grande potencializador da cicatrização e reparo tecidual (ANDRADE, 2019).

## 5.8 Indicações

Na estética o uso do ozônio é benéfico e seus riscos são quase inexistentes, haja visto que o ozônio é uma biomolécula que não possui poder de causar alergias, além disso, o nosso organismo se utiliza do mesmo para a manutenção de certas funções orgânicas (INIPE, 2020).

Entre os tratamentos benéficos da ozonioterapia na estética podemos incluir o

tratamento contra varizes. Os resultados são eficientes, rápidos e visíveis. Isso é devido ao fato do estímulo feito na circulação ser maior, isso torna mais vantajoso que os métodos tradicionais (INIPE, 2020).

A aplicação cutânea do ozônio leva a melhora da circulação periférica e a microcirculação, causando melhor oxigenação tecidual, acarretando em melhora da aparência da pele (INIPE, 2020)

O tratamento de celulite, como é popularmente conhecida, e de gordura localizada, com ozônio causa a diminuição das células adiposas e viabilizam o processo de angiogênese local (Inipe, 2020). Os efeitos biológicos induzidos pelo gás no corpo, após uma estimulação decorrem não por uma ação direta do ozônio, mas sim pelo estímulo que o gás desencadeia nas biomoléculas. (KAWAHARA, 2020).

Podemos citar também tratamento de acne e queda de cabelo, flacidez e rejuvenescimento e redução de manchas hiperocrômicas na pele, pois o ozônio é capaz de eliminar fungos e bactérias pela destruição da membrana celular. Além disso, sua ação é capaz de causar vasodilatação, recrutando mais células para o local, promovendo a aceleração de regeneração tecidual (INIPE, 2020).

As diversas formas de aplicação tópica de ozônio como tratamento na cicatrização de feridas cutâneas têm mostrado os efeitos satisfatórios para a prática clínica. Estudos que utilizaram imersão transcutânea de ozônio no tratamento do pé diabético observaram resultados satisfatórios dos efeitos do ozônio na descontaminação e cicatrização das feridas, quando comparados com tratamentos convencionais (ANDRADE, 2019).

O ozônio pode ser usado também na área odontológica, na higienização dos equipamentos, inibindo assim formação de “biofilme” bacteriano. (MORETTE, 2011). Além disso, o ozônio pode ser usado na odontologia preventiva, no tratamento de cáries, em canais, em tratamentos gengivais, em processos cirúrgicos como implantes e extrações. Isso devido a atividade antimicrobiana que leva a inibição e a destruição das bactérias bucais (NESI, 2018; ANDRADE, 2019).

## 5.9 Contra Indicações

- Deficiência de G6PD – glicose 6 fosfato desidrogenase: seja na deficiência ou até mesmo na ausência dessa enzima a terapia tende a causar a destruição em massa

das hemácias, que são as principais células do sangue e desempenham a função de transporte de oxigênio (ISCO,2020).

A prevalência de deficiência de glicose 6 fosfato desidrogenase (G6PD) varia entre os grupos étnicos com frequência geral mais baixa nas Américas (3,4%), Europa (3,9%) e Pacífico (2,9%) em comparação com a África

Subsaariana (7,5% ), Oriente Médio (6,0%) e Ásia (4,7%) (ISCO,2020).

- Gravidez - deve ser evitada durante o primeiro trimestre, período crítico para o desenvolvimento do embrião e do feto. No entanto, a ozonioterapia tem sido utilizada com bons resultados no tratamento de diferentes doenças associadas à gravidez, como: gestose, insuficiência placentária, retardo de crescimento fetal, ectopia cervical, pré-eclâmpsia (ISCO, 2020).

### 5.10 Vias de Administração

A técnica de ozonioterapia é benéfica em várias áreas clínicas, e pode ser utilizada a via sistêmica ou até mesmo a via tópica para sua administração. (ANDRADE, 2019).

As aplicações sistêmicas de ozônio podem se dar por meio das seguintes formas: via auricular, via vaginal, via bags, via soro ozonizado, via auto hemoterapia, via retal (KAWAHARA, 2020).

O sangue, por conta das propriedades físico-químicas do ozônio, é o melhor veículo para viabilizar as mensagens geradas por este gás, porém os demais tecidos têm uma relevância cooperativa importante. Os efeitos biológicos gerados envolvem o balanço redox, pois o estresse oxidativo tem correlação com as patologias, independente da causa ou tempo de evolução (KAWAHARA, 2020).

As aplicação tópica de ozônio podem se dar por meio das seguintes formas:

- IMERSÃO TRANSCUTÂNEA DE OZÔNIO:

Se dá por meio da insuflação de um saco plástico resistente, que é mais conhecido como "bag", ou por uma bota de baixa pressão, conhecida como bota de Rokitansky ou até mesmo por meio de ventosas de ozônio (ANDRADE, 2019).

**Figura 4 - Bota de Rokitansky**



É possível observar a “bag” de ozônio para realização de tratamento nos pés.

**Fonte:** <https://www.ispsaude.com.br>

**Figura 5 - “Bag” de ozônio.**



É possível observar uma espécie de luva de ozônio para tratamento da região das mãos.

**Fonte:** <https://www.primecirurgica.com.br>

- **ÁGUA OZONIZADA:**

Pode ser aplicada em feridas, úlceras e várias lesões, em diferentes concentrações isso irá depender da finalidade, seja para desinfetar ou regenerar, e também do tipo de tecido que será aplicada, é capaz de obter efeitos anti-inflamatórios em lesões agudas e crônicas com e sem infecção. (ANDRADE, 2019).

**Figura 6 - Água ozonizada.**



É possível observar um recipiente onde é preparada a água ozonizada.

**Fonte:** <https://ozonistoreblog.wordpress.com> .

- **ÓLEO OZONIZADO:**

Ao entrar em contato com os tecidos libera ozônio, favorecendo o processo cicatricial assim como desempenhando também uma função preventiva. É utilizado em tratamento de feridas traumáticas, queimaduras, assim como em infecções locais, como micoses de pele e das unhas, por exemplo. Também é usado no tratamento de feridas crônicas como úlceras por pressão, úlceras arteriais ou úlceras venosas do membro inferior (ANDRADE, 2019).

Segundo Viana (2018), as concentrações e modo de aplicação variam de acordo com a afecção a ser tratada, já que a concentração de ozônio determina o tipo de efeito biológico e o modo de aplicação relaciona-se à sua ação no organismo.

A dose total de ozônio é equivalente ao volume de gás (mL) multiplicado pela concentração de ozônio ( $\mu\text{g}/\text{NmL}$ ), ou seja, a dose é igual ao volume vezes a concentração). (ISCO, 2020)

As baixas doses ( $0,4 \mu\text{g} / \text{NmL}$ ) têm um efeito imunomodulador e são utilizadas em doenças em que se tem suspeita de comprometimento do sistema imunológico. Já as doses médias ( $0,8 \mu\text{g} / \text{NmL}$ ) são imunomoduladoras e estimulam a enzima antioxidante do sistema de defesa, útil em doenças degenerativas crônicas. E as altas doses ( $2 \mu\text{g} / \text{NmL}$ ) têm ação inibitória dos mecanismos que ocorrem nas doenças de caráter autoimune, além disso são bem utilizadas em úlceras ou ferimentos infectados (ISCO, 2020)

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização deste trabalho de conclusão de curso é importante para despertar o interesse para a ozonioterapia e somar as novas pesquisas na área. Com foco principalmente na área da estética, visto que isso amplia o conhecimento sobre a técnica que possui grande relevância social, científica e econômica. Apesar de ainda não ser muito difundida no país e ainda existir dúvidas ao seu respeito mesmo havendo inúmeros estudos que comprovem sua eficácia.

Apesar de existirem diversos tratamentos de alto nível tecnológico e que tratam os mais variados casos de afecções estéticas, muitos deles não são acessíveis para grande maioria da população, principalmente devido ao alto custo. Nesse contexto, a ozonioterapia provou ser uma técnica relativamente barata em vista dos outros tratamentos. Além disso, tem como diferencial o poder de tratar praticamente todas as afecções estéticas apenas com o uso do gás.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, A. L. N. Revisão bibliográfica sobre ozonioterapia tópica no tratamento de úlceras em membros inferiores. Universidade Federal de Uberlândia - UFU. Uberlândia-MG, 2019.

ANZOLIN, A. P., BERTOL, C. D. Ozonioterapia como terapêutica integrativa no tratamento da osteoartrose: uma revisão sistemática. BrJP 1. Apr-Jun 2018.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE OZONIOTERAPIA - Ozonize-se: história da ozonioterapia ABOZ - 2021. Acesso em: 03/09/2021 às 17:35.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE OZONIOTERAPIA - Ozonize-se: o ozônio em nosso planeta ABOZ - 2021. Acesso: 26/08/2021 às 16:00.

CUCCIO, G., FRANZINI, M. Oxygen-ozone therapy in the treatment of tissue adipose diseases. Ozone Therapy, v.1, n.2, p.25-33, 2016.

ELVIS, A. M., EKTA, J. S. Ozone therapy: A clinical review. J Nat Sci Biol Med. 2011. Jan;2(1):66-70. doi: 10.4103/0976-9668.82319. PMID: 22470237; PMCID: PMC3312702.

INSTITUTO INTEGRADO DE PESQUISA E EDUCAÇÃO - Ozonioterapia na Estética e Seus Usos Medicinais - INIPE - 2017. Acesso em 26/08/2021 às 14:57.

ISCO3 (2020) Declaração de Madri sobre Ozonioterapia, 3 rd ed. Madrid. www.isco3.org. Comitê Científico Internacional de Ozonioterapia.

KAWAHARA, R., Joaquim, J.G.F. OZONIOTERAPIA quando a compreensão faz toda a diferença. BOLETIM Apamvet. v. 11, n. 2 (2020).

LIMA, F. B. Ozonioterapia: Uma abordagem profissional e a aplicação da técnica em pacientes no Município de Patos/PB. Revista Brasileira de Educação e Saúde, (Pombal – PB, Brasil), v.11, n.1, p. 113-121, dezembro de 2020.

MACHADO, A. S. Saúde Bucal e Dental. Conselho Editorial Revista de Odontologia Protética. Vol 2. Edição 2. Ano 2016.

MORETTE, D. A. Principais aplicações terapêuticas da ozonioterapia. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade. Botucatu: [s.n.], 2011.

NESI, A. K. OZONIOTERAPIA: O uso do ozônio na Odontologia. São Lucas Centro Universitário. Porto Velho – RO, 2018.

PROTOCOLO DE MADRI – APRESENTAÇÃO. Felipe Augusto de Souza Manzani – médico.

VALDENASSI, L., FRANZINI, M., SIMONETTI, V., RICEVUTI, G. (2016). Ozone-Ozone Therapy: Paradoxical Ozone Stimulation. Terapia de ozônio, 1 (1), 2-4.

VIANA, A. C. I. S. Os benefícios da ozonioterapia no tratamento de afecções dermatológicas. Teresina: Famep, 2018, 40. fls.

# DIABETES DO TIPO MODY E O COMPROMETIMENTO CLÍNICO ACARRETADO POR MUTAÇÕES NO GENE DA GLUCOQUINASE (GCK-MODY)

## MODY-TYPE DIABETES AND CLINICAL IMPAIRMENT CAUSED BY MUTATIONS IN THE GLUCOKINASE GENE (GCK-MODY)

Ana Luiza Moraes Rezende Teixeira<sup>1</sup>  
Andressa Megumi Niwa<sup>2</sup>

### RESUMO

A Diabetes é um distúrbio metabólico crescente em todo o mundo. Assim como a Diabetes do adulto jovem (MODY - *Maturity-Onset Diabetes of the Young*), uma alteração genética heterogênea, de herança autossômica dominante. Dentre as inúmeras alterações referentes a esse distúrbio, a Diabetes MODY2, advinda da mutação por inativação heterozigótica do *GCK*, gene sintetizador da glucoquinase, é uma das mais importantes e prevalentes. Porém, é pouco conhecida pela população, inclusive pelos profissionais da área da saúde. Tendo em vista o exposto, para a confecção dessa revisão bibliográfica descritiva foram utilizados artigos científicos escritos na língua portuguesa, inglesa e espanhola, advindos do SciELO, PubMed, Ministério da Saúde e o Google Acadêmico. É sabido que o principal sinal para a detecção da Diabetes do tipo MODY2 é a hiperglicemia leve e não progressiva, entretanto, a grande maioria dos pacientes apresentam-se assintomáticos. Portanto, o diagnóstico usual é baseado na triagem clínica, histórico familiar e execução de testes genéticos. À vista disso, diante da sutileza das manifestações, o tratamento é dietético aliado à prática de exercício constante, exceto em raras complicações, como gestação ou sobreposição de outras doenças. Diante do exposto, é inerente que esse tipo de Diabetes encontra-se negligenciada em inúmeras áreas do planeta, incluindo o território brasileiro. Isso acarreta diagnósticos incorretos e tratamentos ineficazes ou prejudiciais à saúde e ao bem estar do paciente. Dessa forma, a propagação do conhecimento é essencial para a formação de profissionais da saúde cientes e capacitados para a atuação no cuidado a pacientes MODY.

**Palavras-chaves:** GCK-MODY; MODY2; diabetes.

### ABSTRACT

Diabetes is a growing metabolic disorder worldwide. Just like Young-Onset Diabetes (MODY Maturity-Onset Diabetes of the Young), a heterogeneous genetic alteration with autosomal dominant inheritance. Among the numerous alterations related to this disorder, MODY2 Diabetes, resulting from heterozygous inactivation mutation of the

---

<sup>1</sup> Discente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). E-mail: analuizarezende@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Docente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). Email: andressa.niwa@unifil.br

GCK gene, which synthesizes glucokinase, is one of the most important and prevalent. However, it is little known by the general population, including healthcare professionals. Considering the above, scientific articles written in Portuguese, English, and Spanish from SciELO, PubMed, the Ministry of Health, and Google Scholar were used for the preparation of this descriptive literature review. It is known that the main signal for the detection of MODY2 Diabetes is mild and non-progressive hyperglycemia; however, the vast majority of patients are asymptomatic. Therefore, the usual diagnosis is based on clinical screening, family history, and genetic testing. In view of the subtlety of the manifestations, treatment consists of dietary measures combined with regular exercise, except in rare complications such as pregnancy or overlapping with other diseases. Given the above, it is inherent that this type of Diabetes is neglected in numerous regions worldwide, including Brazilian territory. This results in incorrect diagnoses and ineffective or harmful treatments for the health and well-being of the patient. Therefore, the dissemination of knowledge is essential for the education of healthcare professionals who are aware and capable of caring for MODY patients.

**Keywords:** GCK-MODY; MODY2; diabetes.

## 1 INTRODUÇÃO

A diabetes é uma patologia metabólica que vem crescendo consideravelmente em número e em novas descobertas nos últimos anos por todo o planeta (BOTELHO, 2023). Em vista disso, a MODY (*Maturity-Onset Diabetes of the Young*), também denominada como Diabetes do Adulto Jovem (STEELE et al., 2014), obtém inovações e descobertas todos os dias.

A MODY é descrita como um distúrbio genético autossômico e dominante (POLLAK et al., 2017) com, pelo menos, quatorze subtipos definidos e catalogados, que, em geral, afetam o funcionamento das células beta pancreáticas (BROOME et al., 2021). Pesquisas apontam que essa doença reflete em cerca de 1-5% de todos os casos de diabetes e representa 1-6% dos casos de diabetes infantil (URAKAMI, 2019). No entanto, essas estimativas não são fidedignas, pois diversas pessoas acarretadas não possuem diagnóstico ou apresentam identificação incoerente (AFONSO et al., 2014). Ainda nesse contexto, é essencial ponderar a variação epidemiológica dependente do grupo étnico e racial do paciente, estudado e comprovado em pesquisas de Shepherd et al. (2016). Concomitantemente, dependendo das regiões do planeta, há aumento ou diminuição da prevalência de

cada subtipo da doença (ÜSTAY et al., 2022). Como exemplo, nos Estados Unidos, estatísticas apontam que a MODY pode afetar e/ou afeta cerca de 300.000 pessoas, que em sua maioria detêm de diagnósticos incompatíveis à Diabetes do Adulto Jovem (KLEINBERGER; POLLIN, 2015).

Tendo em vista a grande diversidade de alterações relacionadas à essa patologia, é possível selecionar os três genes mais acarretados: *HNF1α*, *HNF4α* e *GCK* (URAKAMI, 2019; KLEINBERGER; POLLIN, 2015). Na qual, os genes *HNF1α* e *HNF4α* afetam os fatores de transcrição que envolvem a produção de insulina nas células beta pancreáticas e o *GCK* é fundamental na percepção dos níveis de glicose no sangue (KLEINBERGER; POLLIN, 2015), regulando a produção de insulina e realizando o controle do metabolismo da glicose corpórea (HULÍN et al., 2020; HATTERSLEY et al., 2018).

O gene *GCK*, apresenta, até a data atual, mais de 900 alterações distintas, em sua maioria caracterizando o *GCK-MODY* ou *MODY 2* (CAETANO et al., 2012). A maior parte dos indivíduos afetados por essa modificação apresentam glicemia de jejum alterada e em um menor número de casos, há confirmação de diabetes. Sintoma este que, em geral, não acarreta em complicações crônicas e agudas (KLEINBERGER; POLLIN, 2015). Usualmente, nos portadores dessa doença a produção de insulina é adequada, porém tardia. Dessa forma, os níveis glicêmicos do paciente retornam ao normal após a liberação desse hormônio (GARDNER; TAI, 2012). Cerca de 23 a 65% das alterações relacionadas à hiperglicemia infantil referem-se à *GCK-MODY* (NOMURA et al., 2022), que, em sua grande maioria, são detectadas, diagnosticadas e tratadas de forma errônea.

Sabe-se que as variações e a incidência das mutações são distintas em todo o mundo (KLEINBERGER; POLLIN, 2015). Diante do exposto, é perceptível que a diabetes do tipo *MODY* é uma patologia que permanece negligenciada em vários países, incluindo o Brasil. Dessa forma, muitos pacientes são diagnosticados de forma incoerente pela falta de informação específica e eficaz. A disfunção no gene *GCK*, produtor da enzima glucoquinase, é um dos principais e mais corriqueiros entre os pacientes, a investigação e descrição adequada facilita a vida do portador e evita erros e contratempos advindos do tratamento incorreto.

É fundamental a propagação de informações sobre as bases genéticas, sinais

e sintomas desse distúrbio para a população e, principalmente, para colaboradores da área da saúde. Visando, assim, investigações, diagnósticos e tratamentos hábeis e mais eficazes para os portadores dessa patologia. Sendo assim, os pacientes terão fontes seguras de informação para que possam efetuar as adaptações necessárias para uma boa convivência com a patologia. Assim sendo, o presente estudo tem como objetivo investigar e descrever os distúrbios genéticos causadores da Diabetes do Adulto Jovem, em específico à disfunção no gene *GCK*. Além de caracterizar o estilo de vida e adaptações dos portadores dessa patologia.

## 2 METODOLOGIA

O estudo referido trata-se de uma pesquisa bibliográfica de caráter descritivo, exploratório e qualitativo. Sendo assim, os dados, conceitos e métodos presentes nessa pesquisa foram retirados de artigos científicos, livros, teses e dissertações sobre o tema em bibliotecas, sites e plataformas online como o SciELO (*Scientific Electronic Library Online*), PubMed (*US National Library of Medicine*), Ministério da Saúde e o Google Acadêmico.

Visando obter um trabalho com temas mais atuais e relevantes, foram selecionados 48 trabalhos escritos nos idiomas português, espanhol e inglês, todos publicados entre os anos de 2010 e 2023 dando favoritismo aos mais recentes. Todos analisados e acessados de maio de 2022 a outubro de 2023. Assim, para a seleção dos artigos a serem utilizados, foram aplicados descritores como: Diabetes do Adulto Jovem, MODY, gene *GCK*.

O trabalho integral foi constituído pela análise inicial dos artigos previamente selecionados, seleção e contextualização das informações mais importantes dos projetos e, por fim, a construção e elaboração do presente estudo.

## 3 DIABETES DO TIPO MODY

### 3.1 Definição

A diabetes do tipo MODY é caracterizada por ser um distúrbio de cunho heterogêneo que afeta, em principal, as células beta pancreáticas, apresentando

níveis glicêmicos, os valores da hemoglobina A1c elevados (DICKENS et al., 2019), com falha na produção de insulina (NOMURA et al., 2022) e início predominantemente na idade jovem, anterior aos 25 anos (GARDNER; TAI, 2012).

Em geral, essa patologia apresenta autoimunidade e auto-anticorpos contra as células beta pancreáticas negativas, sem resistência à insulina (URAKAMI, 2019). Todavia, auto-anticorpos, eventualmente, manifestam-se de modo transitório no organismo dos pacientes, podendo acentuar a partir do desenvolvimento da obesidade (que surge, em sua maioria, sem correlação com a Diabetes do Adulto Jovem) e a utilização de fármacos e/ou entorpecentes (WEDRYCHOWICZ et al., 2017). Outrossim, de modo corriqueiro, essa patologia apresenta pouco ou nenhum defeito na produção e funcionamento da insulina e peptídeo C, além de rara cetoacidose diabética (AFONSO et al., 2014). Entretanto, é necessário salientar que dependendo do fator gênico modificado, diferentes traços sintomatológicos serão desenvolvidos (GONZÁLEZ; CALERO, 2012).

### **3.2 Sinais e sintomas**

As sintomatologias da Diabetes do Adulto Jovem são conhecidas pela sua pluralidade, dependentes da etiologia genética (GARDNER; TAI, 2012). Dessa forma, o acometimento, prognóstico e tratamento dependerão do(s) tipo(s) de gene(s) modificado(s) (BROOME et al., 2021), sendo possível variar entre hiperglicemia baixa, moderada ou elevada; poucas ou muitas complicações; presença ou ausência de diferentes distúrbios microvasculares e/ou macrovasculares e coexistência ou não de disfunções crônicas (GONZÁLEZ; CALERO, 2012). Tendo em vista o exposto, os portadores da MODY, de forma geral, não apresentam quadros comuns relacionados aos outros tipos de Diabetes, tais como: obesidade, dislipidemia e hipertensão correlacionados à mutação (AFONSO et al., 2014).

A hiperglicemia, quando descompensada e não tratada de forma correta, acarreta inúmeras complicações, dentre elas podemos citar os distúrbios vasculares que podem estender-se à patologias mais complexas como retinopatia, nefropatia, neuropatia, acidentes vasculares cerebrais (AVC), angina de peito e infarto agudo do miocárdio (BRUTSAERT, 2022; VIANA et al., 2014). Dentre todo esse percurso os pacientes podem apresentar: hipertensão arterial sistêmica, dislipidemias,

microtromboses arteriais, efeitos pró-inflamatórios e pró-trombóticos (BRUTSAERT, 2022). Além de todo o exposto anteriormente, níveis glicêmicos elevados comprometem o sistema imune do paciente, provocando disfunção imunitária e favorecendo infecções bacterianas e fúngicas (BRUTSAERT, 2022; VIANA et al., 2014). A resposta inflamatória também é comprometida, ocasionando inúmeros distúrbios como estresse oxidativo até a morte celular (VIANA et al., 2014).

### 3.3 Avaliação diagnóstica

Para o diagnóstico, os testes genéticos são os mais recomendados, já que apresentam alto padrão e elevada sensibilidade e especificidade. No entanto, demandam investimento elevado, o que torna, inacessível para a maior parte da população (ÜSTAY et al., 2022). Termos e protocolos são seguidos para que apenas aqueles pacientes com alta suspeita de MODY sejam testados, gerando assim menor custo e exposição diminuída dos indivíduos a procedimentos desnecessários (ÜSTAY et al., 2022). Critérios de triagem passaram a ser utilizados pelos profissionais de saúde, dentre todos, os mais comuns são: histórico familiar, idade e traços clínicos (TARANTINO et al., 2020). Estudos denotam que o histórico familiar é a razão principal para pré diagnóstico da MODY, em especial familiares de primeiro grau (ÜSTAY et al., 2022).

Ambos os métodos de triagem são desafiadores e apresentam falhas. Assim, diversos portadores de mutações MODY são excluídos dos ensaios ou testados sem necessidade. Melhores formas de identificação estão em estudo e desenvolvimento para melhor atender todos os indivíduos, incluindo suas individualidades, especificidades, formas étnicas e as raças diversas (TARANTINO et al., 2020). Além do exposto, a triagem familiar é de grande importância logo após a comprovação da mutação no indivíduo. Estudos validam a presença das mesmas mutações ou alterações análogas em alguns dos parentes próximos que realizaram testes genéticos após o diagnóstico do familiar. Isso justifica e comprova a carga hereditária dessa patologia, bem como a importância da descoberta e do tratamento correto de todos os homens e mulheres afetados (TARANTINO et al., 2020).

Dados estatísticos realizados por Shields et al. em 2010 no Reino Unido estimou que aproximadamente 80% dos jovens portadores da MODY não são

diagnosticados ou têm diagnósticos incoerentes, sendo classificados e tratados como portadores de diferentes tipos de Diabetes, como a Diabetes Mellitus (DM) tipo 1 ou tipo 2. Outro exemplo foi visto numa investigação realizada com 586 jovens diabéticos que apresentou 47 pacientes positivados para os três genes mais recorrentes da MODY, dos quais apenas 3 deles possuíam diagnóstico correto. Dessa forma, a descrição dos outros 44 portadores da Diabetes do Adulto Jovem foram incorretas e, conseqüentemente, esses indivíduos foram tratados erroneamente, em sua maioria, com aplicações de insulina (PIHOKER et al., 2013).

O diagnóstico correto é indicador de tratamento preciso, individualizado e personalizado para a etiologia específica (KLEINBERGER; POLLIN, 2015). Além de ser primordial para a projeção e reconhecimento dos riscos da família e dos filhos do portador possuir genes mutados (GARDNER; TAI, 2012). É válido informar que a dificuldade de diagnóstico preciso se relaciona muito à negligência e falta do hábito de triagem aos pacientes com suspeita de Diabetes do Adulto Jovem na maioria dos centros de saúde, incluindo nas avaliações médicas habituais (TARANTINO et al., 2020).

A junção e o aprimoramento dos estudos de Shields et al. (2017), Tarantino et al. (2020) e Magalhães et al. (2019) empregaram inúmeros termos, dados e análises que possibilitaram a construção da Calculadora de Probabilidade de MODY, buscando aperfeiçoar as formas de diagnóstico. Essa ferramenta possui como intuito principal prever a chance e avaliar os riscos daquele indivíduo carregar essa patologia. Os testes genéticos serão direcionados a pessoas com alta probabilidade de MODY e testagens desnecessárias serão evitadas. Os valores sugeridos pelas diretrizes para positivar e, conseqüentemente, considerar o paciente com altas chances de possuir algum tipo de mutação é maior que 60%. A partir disso, para os pacientes com elevadas chances, iniciam-se os testes genéticos. Para acesso geral da população, a calculadora de probabilidade de MODY foi disponibilizada no seguinte link: <https://www.diabetesgenes.org/exeter-diabetes-app/ModyCalculator> (RODACKI et al., 2023).

### 3.4 Tratamento

No que se refere ao tratamento das variações da DM, medicações e condutas díspares são praticadas. Na DM tipo 1, utiliza-se em grande escala a insulino terapia. Enquanto para a DM tipo 2 é utilizado, na maioria dos casos, a metformina. Em contrapartida, para a terapêutica da MODY, utiliza-se quando necessário, as sulfonilureias (KLEINBERGER; POLLIN, 2015), hiperglicemiante oral, que associa-se ao canal de potássio presente na membrana plasmática das células beta pancreáticas, alterando o seu funcionamento ao reduzir a permeabilidade da membrana ao potássio e acarretar a sua despolarização. Por consequência, o potencial de ação é gerado, elevando a secreção e liberação de insulina (RAMOS et al., 2015). Em contrapartida, a insulino terapia é indicada apenas em gestantes, a fim de evitar o possível crescimento acentuado do feto (GARDNER; TAI, 2012) e em casos mais graves e complexos, em que há grande potencial de falência progressiva das células beta pancreáticas (GONZÁLEZ; CALERO, 2012). Contudo, na maioria das circunstâncias, a alimentação regrada adicionado à redução do consumo de carboidratos no cotidiano (DICKENS et al., 2019) e a prática de exercícios físicos no dia a dia possuem ótimo prognóstico (NOMURA et al., 2022).

A sobreposição da MODY, de qualquer natureza, com outro tipo de Diabetes, como a DM do tipo 1 ou do tipo 2 pode aparecer em casos específicos e atípicos. Nessas situações, o tratamento deve ser individualizado e personalizado, além de demandar um cuidado maior para a total efetividade do tratamento de ambas as patologias (AFONSO et al., 2014; GARDNER; TAI, 2012). Ademais, em casos raros a MODY pode acarretar e relacionar-se a qualquer outra patologia, como exemplo a associação da alteração do gene *HNF1 $\beta$* , agente responsável da MODY5, com a doença do rim cístico. Isso é explicado pela presença do gene referido em vários órgãos simultaneamente, incluindo, nesse episódio, a sua atuação nos rins. Dessa forma, é possível que a alteração afete diferentes áreas do organismo concomitantemente (DOTTO et al., 2019).

É fato que a comunidade científica ainda carece de um maior número de dados, informações validadas, ensaios clínicos e estudos relacionados a essa patologia. Principalmente ao pensar na distinção entre a MODY e os outros tipos de Diabetes

(ÜSTAY et al., 2022). O Brasil, por apresentar ampla miscigenação, torna ainda mais difícil e escasso o estudo sobre essa patologia, principalmente no que se refere ao modo de triagem (TARANTINO et al., 2020).

### 3.5 Aspectos genéticos

A Diabetes do tipo MODY é uma anomalia genética que apresenta, no mínimo, quatorze subtipos já catalogados (ÜSTAY et al., 2022; URAKAMI, 2019). Dentre tantas alterações, as principais manifestações estão relacionadas ao MODY1 ao MODY14 (QUADRO 1).

**Quadro 1** - Catalogação dos genes e proteínas associadas ao Diabetes do Adulto Jovem - MODY1 ao MODY14.

NOMENCLATURA	GENE	PROTEÍNA
MODY1	<i>HNF-4<math>\alpha</math></i>	Fator Nuclear dos Hepatócitos 4 $\alpha$
MODY2	<i>GCK</i>	Proteína glucoquinase
MODY3	<i>HNF-1<math>\alpha</math></i>	Fator Nuclear dos Hepatócitos 1 $\alpha$
MODY4	<i>IPF-1/PDX1</i>	Fator 1 $\beta$ nuclear do hepatócito
MODY5	<i>HNF-1<math>\beta</math></i>	Fator hepatonuclear 1
MODY6	<i>NEUROD1</i>	Fator 1 de diferenciação neurogênica
MODY7	<i>KLF11</i>	Fator 11, tipo Kruppel
MODY8	<i>CEL</i>	Lipase de éster carboxílico
MODY9	<i>PAX4</i>	Genes da família PAX ( <i>paired box</i> )
MODY10	<i>INS</i>	Insulina
MODY11	<i>BLK</i>	Quinase de linfócitos B
MODY12	<i>ABCC8</i>	<i>ATP Binding Cassette Subfamily C Member 8</i>
MODY13	<i>KCNJ11</i>	<i>Potassium Inwardly Rectifying Channel Subfamily J Member 11</i>
MODY14	<i>APPL1</i>	<i>Adaptor Protein, Phosphotyrosine Interacting With PH Domain And Leucine Zipper 1</i>

Fonte: Próprio Autor

Além das classificações citadas anteriormente, o gene *WSF1*, está sendo analisado e relacionado à MODY (BROOME et al., 2021). Esse gene referido produz a proteína transmembrana Wolframin que se localiza, em principal no retículo endoplasmático (RE), presente em células cerebrais, pancreáticas e cardíacas. Estudos indicam que a superexpressão da wolframina, também, relaciona-se à regulação da apoptose pelo RE. Por consequência, alterações nessa linhagem gênica modificam o funcionamento do retículo endoplasmático (BROOME et al., 2021) e acarreta elevação dos níveis glicêmicos pela perda progressiva das células beta pancreáticas (BROOME et al., 2021).

Estudos apontam que todos os genes relacionados à diabetes do adulto jovem, citados anteriormente (Tabela 1), são responsáveis por cerca de 85% dos casos de MODY. Desse modo, aproximadamente 15% das outras condições são acarretadas por alelos ainda não descritos ou pouco estudados. Devido à natureza desconhecida dessas mutações, normalmente, esses cenários são denominados MODY-X (IVANOSHCHUK et al., 2020). Ademais, visto que estudos sobre essa patologia estão em constante crescimento, inúmeros outros genes e outras alterações estão sendo observadas, analisadas e possivelmente serão catalogadas nos próximos anos.

Em geral, as falhas genéticas envolvendo a MODY são ocasionadas por: “missense, nonsense, splicing e pequenas deleções/inserções/variantes de duplicação” (AFONSO et al., 2014).

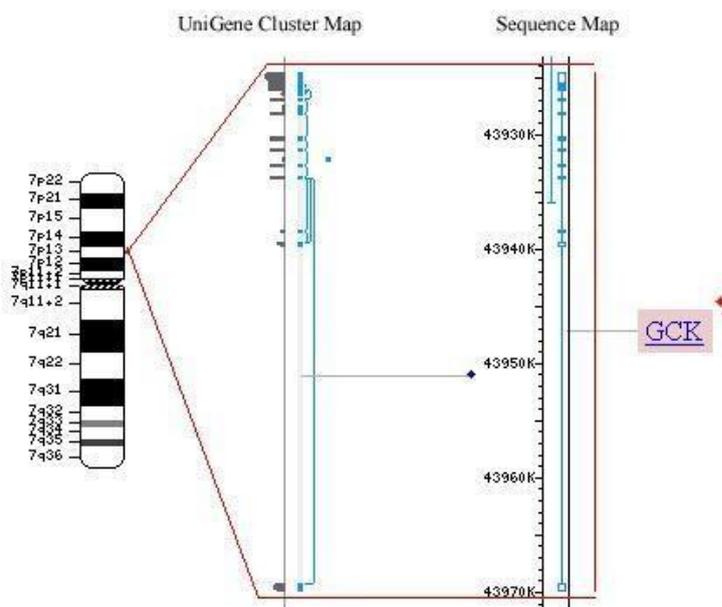
## **4 GENE GCK**

### **4.1 Características e alterações genéticas**

O gene *GCK* (MIM 138079), codificador da enzima glucoquinase, está localizado no cromossomo 7 (RefSeq NG\_008847.2) (FIGURA 1) (HULÍN et al., 2020) e é composto por 12 éxons, contendo aproximadamente 45.168 pb (ZHOU et al., 2019). A glucoquinase, por sua vez, é pertencente ao grupo das hexoquinases, efetivando a função essencial relacionada às atividades metabólicas. A enzima referida é formada por um domínio grande (Glu 256 e Glu 290) e um domínio pequeno (Thr 168 e Lys 169), ligados por uma região de articulação (Asn 204 e Asp 205). Além

disso, esse elemento pode ainda apresentar conformações distintas: super aberta, inativa; aberta, intermediária; fechada, ativa (HULÍN et al., 2020).

**Figura 1** - Localização do gene GCK no cromossomo 7, entre 43000 e 44000 kb.



Fonte: Dean e McEntyre (2004).

Ademais, a Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes - Edição 2023 afirma que a *GCK-MODY* é a alteração *MODY* de maior recorrência, sendo definido por: “Hiperglicemia de jejum leve, desde o nascimento, assintomática, não progressiva e geralmente sem evolução para complicações micro e macrovasculares” (RODACKI et al., 2023).

No ano de 1992 inúmeros cientistas identificaram, catalogaram e detalharam a correlação do gene da glicoquinase à Diabetes do tipo *MODY*. Sendo o *GCK*, o primeiro gene a ser relacionado a essa doença (IVANOSHCHUK et al., 2020). Assim sendo, alterações por inativação heterozigóticas envolvendo o *GCK* estão inclusas no *MODY2*. Dessa forma, mutações nesse gene fazem parte de uma associação heterogênea de distúrbios monogênicos (AFONSO et al., 2014).

Essa enzima é produzida em quantidades variáveis em diversas regiões do organismo humano, tais como: pâncreas, cérebro, fígado e células endócrinas do intestino (CONCOLINO et al., 2022). Uma das principais funções dessa molécula é atuar na fosforilação de glicose em glicose-6-fosfato, passo essencial e inicial da glicólise (NOMURA et al., 2022). Além disso, de forma genérica, a glucoquinase

também vai atuar na fosforilação de determinadas hexosas, por exemplo: D-glucosa, D-manosa e D-frutosa (POLLAK et al., 2017).

No fígado, em especial, a glucoquinase realiza a parte inicial do armazenamento de glicose na forma de glicogênio e, também é responsável por ativar a lipogênese hepática (NOMURA et al., 2022). Dessa forma, pacientes com disfunção dessa enzima, por consequência, apresentam diminuição da produção e da quantidade de glicogênio hepático, bem como elevação da gliconeogênese pós-prandial (TIMSIT et al., 2022).

A insulina, nos hepatócitos, induz a transcrição do gene *GCK* por inúmeros dispositivos, como por exemplo o fosfoinosítido-3 (PI-3) - quinase/proteína quinase B (PKB). Outro exemplo é o 6-fosfofruto-2-quinase/frutose 2,6-bisfosfatase (PFK2/FBP2) responsável por realizar o controle positivo de produção enzimática. Em contrapartida, a proteína reguladora da glucoquinase (GKRP) detém o dever de realizar o controle negativo do *GCK* após a tradução já efetivada (MASCOLO et al., 2021).

À vista disso, mutações nesse gene modificam o limiar de glicose no sangue necessário para o início da produção de insulina pelas células do pâncreas (MATSCHINSKY; WILSON, 2019). Isso porque, a regulação não é efetivada transcricionalmente, visto que, faz-se necessário, nesse órgão, dispor de níveis constantes desta enzima. Logo, a glicose torna-se o principal estimulador e impulsionador do *GCK*, sendo a resposta efetiva das células beta pancreáticas dependentes da taxa glicêmica sanguínea (AFONSO et al., 2014). Lembrando que a resposta à insulina nesses pacientes é preservada. Entretanto, a sensibilidade prejudicada das células beta pancreáticas demanda níveis elevados de glicose para a resposta insulínica (RUDLAND, 2019). No entanto, apesar dos sinais e sintomas apresentarem de forma simples, com o decorrer do tempo, a resistência à insulina leve ou moderada pode ser desenvolvida (MASCOLO et al., 2021).

As alterações principais estão relacionadas a variantes de nucleotídeo único (SNV) e inserções/deleções (indels) (CONCOLINO et al., 2022). Embora essa patologia apresente inúmeras variações e diversas mutações, o fenótipo clínico é, usualmente, invariável. Dessa forma, a maior parte dos pacientes apresentam, em geral, os mesmos sinais e sintomas e, conseqüentemente, recebem tratamentos semelhantes (RUDLAND, 2019).

Além das variações por inativação heterozigóticas responsáveis pela MODY2, outras alterações são notadas nos alelos pertencentes ao *GCK*. Dessa forma, sabendo que as variações nesse gene referido são vastas e díspares, a diferenciação das formas de mutação são de extrema importância para, mais uma vez, gerar um resultado fidedigno a partir da avaliação genética. Uma das alterações encontradas é a mutação de ativação heterozigótica responsável pela hipoglicemia e hiperinsulinemia persistente da infância (PHHI - *Persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy*). Outro exemplo é a inativação homozigótica que acarreta o déficit total do *GCK*, visto em casos de Diabetes Mellitus Neonatal Permanente (JIANG et al., 2021). Em casos mais raros podem haver mutações bialélicas que acarretam inativação integral da glicoquinase (HUGHES et al., 2021).

#### 4.2 Sintomatologia e a triagem clínica

A maioria dos casos de *GCK-MODY* são descritos como assintomáticos. A diminuta ocorrência de sinais e sintomas em geral se apresentam de forma simples e suave (GARDNER; TAI, 2012). Usualmente, a principal característica é a detecção da hiperglicemia leve e não progressiva. Todavia, raros casos descrevem indícios mais graves e complexos como convulsões febris que podem aparecer em meio à sintomatologia habitual (NAKASATO et al., 2023).

Níveis diminuídos de ácidos graxos e triglicerídeos aparentam ser recorrentes em portadores de *GCK-MODY*. Entretanto, a causa da redução dos níveis dessas substâncias na corrente sanguínea ainda não é exata. Contudo, alguns estudos relatam que esse fato pode estar relacionado ao desempenho reduzido da glicoquinase que, por consequência, reduz a produção de glicogênio e malonil-CoA, que são imprescindíveis na manutenção do metabolismo lipídico (SPÉGEL et al., 2013).

A cerca de limiar de peso e crescimento, habitualmente, os pacientes *GCK-MODY* não se enquadram em níveis de obesidade e alcançam desenvolvimento geneticamente pré-estabelecido (WEDRYCHOWICZ et al., 2017). Outrossim, estudos relatam distinções no arranjo da microbiota intestinal entre indivíduos afetados com a *GCK-MODY* quando comparados aos pacientes de Diabetes tipo 1, fato este

importante para a distinção entre a MODY2 e os outros tipos de disfunções diabéticas (LEIVA-GEA et al., 2018).

Inúmeras ferramentas clínicas estão ao dispor de médicos e especialistas para a detecção e tratamento dos portadores de MODY. Entretanto, ainda é perceptível que muitos desses profissionais não utilizam essas ferramentas e informações. Dessa forma, é possível inferir que essa patologia, seus métodos de triagem e métodos de diagnóstico genético ainda se apresentam, em partes, desconhecidos pelos profissionais de saúde (CARMODY et al., 2016). Pela falta de conhecimento, ausência de boas informações e o alto custo dos testes genéticos pressupõe-se que essa patologia é muito mais comum do que se imagina (WEDRYCHOWICZ et al., 2017).

Em relação à investigação e detecção, a presença de sinais, sintomas e fenótipos muitas vezes semelhantes à DM tipo 1 ou tipo 2 aliadas à mutação desfavorecem o reconhecimento e o tratamento dessa patologia (WEDRYCHOWICZ et al., 2017).

Observa-se que os meios de diagnósticos mais corriqueiros envolvendo o gene *GCK* ocorrem ao acaso em exames de rotina explicados pela ausência ou leveza dos sintomas (GARDNER; TAI, 2012). É válido também, a descoberta realizada a partir da triagem familiar (TIMSIT et al., 2022). Para confirmação, utiliza-se testes genéticos moleculares, como forma eficaz de localizar o locus exato da mutação (CAETANO et al., 2012).

Tarantino et al. (2020) em sua pesquisa revelaram sensibilidade do gene *GCK* à hiperglicemia leve, confirmando a veracidade e relevância da utilização desse critério em uma triagem clínica. Entretanto, a causa da hiperglicemia ainda é motivo de estudos. Alguns estudos afirmam que instabilidades na proteína e cinética enzimática interrompida seja o principal fator da elevação glicêmica (CARMODY et al., 2016), já que essa alteração inibitória diminui a capacidade da fosforilação da glicose em glicose-6-fosfato. Além disso, esse fenótipo usual também pode ser relacionado à expressão aumentada do alelo normal que passa a compensar, parcialmente, o déficit acarretado pelo alelo mutado (RUDLAND, 2019).

Considera-se, na maioria dos casos, as curvas referentes ao Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG) semelhantes às de indivíduos que não apresentam a patologia, com um deslocamento singelo para cima (RUDLAND, 2019). Entendendo

que a coexistência entre diferentes traços de diabetes é real, a dosagem de HbA1c é um excelente marcador da coexistência de DM tipo 1 ou tipo 2 e a MODY2. Isso porque indivíduos que apresentam um limiar acima de 60 mmol/mol (7,6%) possuem altas chances de deter a simultaneidade das patologias (RUDLAND, 2019). Ademais, estudos indicam que a deterioração e piora no quadro diabético é baixa ao decorrer dos anos (GARDNER; TAI, 2012).

Para o teste genético, de forma geral, é utilizado o sequenciamento “do promotor, dos éxons 1a, 2-10 e dos sítios de junção do gene *GCK*”. Além do procedimento citado anteriormente, também é realizada a amplificação de sonda dependente de ligação multiplex (MLPA - *multiplex ligation-dependent probe amplification*) para detecção de variações que não possuem determinação efetiva em outros protocolos como no sequenciamento Sanger tradicional. As variações que geram número de cópias em grande proporção (*Copy Number Variations* - CNVs) são exemplos de procedimentos mais complexos que demandam técnicas específicas, na qual o MPLA tornou-se padrão ouro para a detecção (CONCOLINO et al., 2022). Dessa forma, esse novo protocolo é capaz de captar longas deleções, inserções e duplicações. Por fim, em casos esporádicos e singulares é utilizado o sequenciamento de nova geração (*Next Generation Sequencing* – NGS), que detém de alto rendimento, propiciando a análise simultânea de vários genes envolvidos na patologia (RUDLAND, 2019; CONCOLINO et al., 2022).

A Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes - Edição 2023, citando STANIK et al. (2014), declara que 7,3% dos portadores de *GCK*-MODY são acometidos por mutações de novo. Dessa forma, não possuem histórico familiar diabético. Assim, o método aconselhado para avaliação genética é, principalmente, de acordo com o fenótipo clínico particular dessa patologia. Sendo assim, faz-se necessário apenas a avaliação do gene referido (aconselhável pelo método de Sanger), sendo dispensável a efetivação do painel genético completo.

### 4.3 Recurso terapêutico

É reconhecido que o tratamento medicamentoso direcionado para hiperglicemia não é eficaz para indivíduos com disfunção no *GCK* (TIMSIT et al., 2022;

LI et al., 2018). Nas pesquisas de Hohendorff et al. (2017) dos 19 pacientes diagnosticados com GCK-MODY, apenas uma pessoa realizou uso de tratamento medicamentoso. Diferentemente dos indivíduos diagnosticados com outros subtipos de MODY que realizavam tratamentos com fármacos de diferentes naturezas.

Além disso, observa-se que, em geral, a insulina sintetizada não exerce grandes modificações nas taxas hiperglicêmicas. Outrossim, alguns estudos comprovaram que o uso de insulina pode prejudicar e diminuir a produção efetiva e natural da insulina endógena natural dos pacientes, já que a alteração GCK-MODY não prejudica a secreção insulínica (RUDLAND, 2019).

Diante do exposto, o tratamento, em sua maioria, é dietético. Entretanto, indivíduos que possuem casos raros de complicações aliam a terapêutica da doença secundária com a alimentação regrada (CAETANO et al., 2012). Isso porque é possível visualizar em uma pequena porcentagem dos casos alterações micro e macrovasculares (AFONSO et al., 2014; NOMURA et al., 2022).

Estudos realizados no Japão apresentaram indivíduos portadores do GCK-MODY que realizavam tratamento farmacológico indicado pelos médicos e necessário para manutenção dos níveis de glicose. Percebe-se que essa informação contradiz as indicações formais de terapêutica para essa doença. Entretanto, a explicação da utilização dos medicamentos baseia-se no estilo de vida sedentário aliado à alimentação rica em carboidratos seguida por esses pacientes (SALINA et al., 2023).

#### **4.4 GCK-MODY na gestação e na primeira infância**

A gestação é um período de grande chance de detecção, isso porque são realizados inúmeros exames durante todo o tempo gestacional. Entretanto, muitas mulheres ainda são diagnosticadas erroneamente, a sua maioria supondo a existência da diabetes gestacional (BITTERMAN et al., 2020).

Os fetos em vida uterina possuem um consumo de glicose cerca de duas vezes maior do que o consumo do adulto, já que, a glicose é a principal fonte energética fetal (aproximadamente 6 mg/mim) (KOPACZ-PETRANYUK et al., 2018). Dessa forma, patologias ligadas à aquisição glicêmica necessitam de maior atenção. Sendo necessário uma maior frequência de ultrassonografias e a presença de profissionais especialistas na Diabetes do Adulto Jovem no acompanhamento quando

diagnosticados (DICKENS et al., 2019). Isso porque, em gestantes, o desarranjo da função da *GCK* é peculiar e necessita de cuidados maiores ao feto e à mãe (TIMSIT et al., 2022). Ao considerar as mutações herdadas, pela herança autossômica dominante, sabe-se que, as gestantes portadoras de mutações referentes à esse gene, dispõem, em teoria, 50% de chance de transmitir o alelo mutado ao feto por gestação (RUDLAND, 2019).

Na maioria dos casos em que mãe e feto possuem alterações ligadas ao gene *GCK*, o bebê nasce com peso dentro da faixa do normal. Entretanto, nas situações em que apenas a mãe possui algum tipo de mutação, o bebê pode vir a apresentar peso superior à normalidade. Por esse motivo, em fins de prevenção há aplicação de insulina em mães diagnosticadas com *GCK-MODY*, favorecendo assim, a saúde e qualidade de vida do bebê por evitar anomalias fetais (NOMURA et al., 2022). Todavia, apesar de um grande número de bebês portadores da *MODY2* nascer com peso acima do normal, essa característica não pode ser considerada um método de diagnóstico confiável, já que a insulinoterapia gestacional pode alterar a responsividade do feto e diferir o ganho de peso fetal, sem correlações com a mutação (HUGHES et al., 2021).

Pesquisas revelam que a incidência de abortos espontâneos se apresentou mais elevada (33%) nos portadores de *GCK-MODY* quando comparadas à população sem mutações (15%) (DICKENS et al., 2019). Entretanto, poucos dados sobre os riscos de abortos e malformações foram captados, o que indica que porcentagens como essa podem ser subestimadas e os dados relatados podem ser considerados irreais. Dessa forma, necessita-se de mais dados, investigações e referências para que essas informações tornam-se verídicas (KIRZHNER et al., 2022).

Para auxiliar e facilitar a triagem, levantamento de hipótese e diagnóstico, visando diferenciar os tipos e variações de Diabetes na gestação, são utilizadas algumas características frequentes percebidas em pacientes grávidas que carregam alguma alteração referente ao *MODY2*, incluindo: hiperglicemia de jejum contínua (5,5–8,0 mmol/L) (pré, durante e pós gestação), histórico familiar de qualquer variação de DM em primeiro grau e TOTG de 75g de glicose em 2 horas com valores de elevação ainda em estudo, variando de <3,0 mmol/L a <4,6 mmol/L (pré, durante e pós gestação) (RUDLAND, 2019).

Sabe-se que a Diabetes Mellitus tipo 1 é a mais comum na infância. Dessa

forma, diante de descuidos na avaliação, é possível que esses pacientes GCK-MODY sejam tratados de forma errônea. Isto posto, é necessário que a análise nesses pacientes seja feita de forma cuidadosa e detalhada. Posteriormente ao diagnóstico confirmado, não é necessário acompanhamento corriqueiro, isto porque, certamente a hiperglicemia leve permanecerá estável ao longo da vida. No entanto, exames detalhados e regulares são essenciais no aparecimento de sintomas adversos e possíveis complicações (LI et al., 2018).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento, diagnóstico e tratamento da Diabetes do tipo MODY está em constante desenvolvimento em todo o planeta. Entretanto, ainda é irrisório quando comparado à constante negligência. Diante do exposto, é perceptível que a propagação de informações confiáveis e transparentes sobre a diabetes do adulto jovem à toda população é de extrema importância para a saúde pública e diz respeito ao diagnóstico certo e tratamento de qualidade. A GCK-MODY, em especial, é uma das mutações mais recorrentes, em contrapartida, também é considerada simples de perceber e conduzir a terapêutica.

Ao concluir essa revisão bibliográfica, percebe-se que ainda há muito mais para explorar e propagar para os profissionais de saúde, portadores da MODY2, familiares e população em geral. Dessa forma, investimentos para pesquisas são necessários para que todas as dúvidas sobre o tema possam ser sanadas e explicadas. Além disso, é necessário que os métodos de triagem e técnicas laboratoriais sejam aplicadas em consultas rotineiras pelos médicos e especialistas.

Para isso, portadores, familiares e principalmente profissionais da saúde precisam entender e aplicar todos os conceitos, definições e técnicas inerentes à doença.

## REFERÊNCIAS

AFONSO, P.; FERRARIA, N.; CARVALHO, A.; CASTRO, S. V. Maturity onset diabetes of young type 2 due to a novel de novo GKC mutation. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 58, n. 7, p. 772-775, 2014.

BITTERMAN, O.; GIULIANI, C.; FESTA, C.; NAPOLI, A. Glucokinase Deficit

Prevalence in Women With Diabetes in Pregnancy: A Matter of Screening Selection. **Front. Endocrinol.**, v. 11, n. 268, p. 1-5, 2020.

BOTELHO, V. Diagnóstico precoce e prevenção podem desacelerar crescimento da diabetes, **JORNAL DA USP**, 2023.

BROOME, D. T.; PANTALONE, K. M.; KASHYAP, S.R.; PHILIPSON, L. H. Approach to the Patient with MODY-Monogenic Diabetes. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 106, n. 1, p. 237-250, 2021.

BRUTSAERT, E. F. Complicações do diabetes mellitus. **MD, New York Medical College**, p. 1-8, 2022.

CAETANO, L. A.; JORGE, A. A. L.; MALAQUIAS, A. C.; TRARBACH, E. B.; QUEIROZ, M. S.; NERY, M.; TELES, M. G. Incidental mild hyperglycemia in children: two MODY 2 families identified in Brazilian subjects. **Arq Bras Endocrinol Metab**. v. 56, n. 8, p. 519-524, 2012.

CARMODY, D.; NAYLOR, R. N.; BELL, C. D.; BERRY, S.; MONTGOMERY, J. T.; TADIE, E. C.; HWANG, J. L.; GREELEY, S. A.; PHILIPSON, L. H. GCK-MODY in the US National Monogenic Diabetes Registry: frequently misdiagnosed and unnecessarily treated. **Acta Diabetol**, v. 53, n. 5, p. 703-708, 2016.

CONCOLINO, P.; TARTAGLIONE, L.; DE PAOLIS, E.; CARROZZA, C.; URBANI, A.; MINUCCI, A.; PITOCOCO, D.; SANTONOCITO, C. A Novel GCK Large Genomic Rearrangement in a Patient with MODY-2 Detected by Clinical Exome Sequencing. **Genes**, v. 13, n. 2104, p. 1-10, 2022.

DEAN, L.; McENTYRE, J. Chapter 4. Other Types of Diabetes. **The Genetic Landscape of Diabetes**. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US), 2004. p. 1-31.

DICKENS, L. T.; LETOURNEAU, L. R.; SANYOURA, M.; GREELEY, S. A. W.; PHILIPSON, L. H.; NAYLOR, R. N. Management and pregnancy outcomes of women with GCK-MODY enrolled in the US Monogenic Diabetes Registry. **Acta Diabetol**, v. 56, n. 4, p. 405-411, 2019.

DOTTO, R. P.; DE SANTANA, L. S.; LINDSEY, S. C.; CAETANO, L. A.; FRANCO, L. F.; MOISÉS, R. C. M. S.; SA, J. R.; NISHIURA, J. L.; TELES, M. G.; HEILBERG, I. P.; DIAS-DA-SILVA, M. R.; GUIFFRIDA, F. M. A.; REIS, A. F. Searching for mutations in the HNF1B gene in a Brazilian cohort with renal cysts and hyperglycemia. **Arch Endocrinol Metab**, v. 63, n. 3, p. 250-257, 2019.

GARDNER, D. S. I.; TAI, E. S. Clinical features and treatment of maturity onset diabetes of the young (MODY). **Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy**, v. 5, p. 101-108, 2012.

GONZALEZ, A. I. C.; CALERO, T. M. G. Aspectos más recientes en relación con la diabetes mellitus tipo MODY. **Revista Cubana de Endocrinología**, v. 23, n. 2, p. 186-194, 2012.

HATTERSLEY, A. T.; GREELEY, S. A. W.; POLAK, M.; RUBIO-CABEZAS, O.; NJOLSTAD, P. R.; MLYNARSKI, W.; CASTANO, L.; CARLSSON, A.; RAILE, K.; CHI, D. V.; ELLARD, S.; CRAIG, M. E. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: The diagnosis and management of monogenic diabetes in children and adolescents. *Pediatric Diabetes*, v. 19, p. 47-63, 2018.

HOHENDORFF, J.; SZOPA, M.; SKUPIEN, J.; KAPUSTA, M.; ZAPALA, B.; PLATEK, T.; MROZINSKA, S.; PARPAN, T.; GLODZIK, W.; LUDWIG-GALEZOWSKA, A.; KIEC-WILK, B.; KLUPA, T.; MALECKI, M. T. A single dose of dapagliflozin, an SGLT-2 inhibitor, induces higher glycosuria in GCK- and HNF1A-MODY than in type 2 diabetes mellitus. *Endocrine*, v. 57, p. 272-279, 2017.

HUGHES, A.E.; DE FRANCO, E.; GLOBALA, E.; ZELINSKA, N.; HILGARD, D.; SIFIANOU, P.; HATTERSLEY, A. T.; FLANAGAN, S. E. Identification of GCK-maturity-onset diabetes of the young in cases of neonatal hyperglycemia: A case series and review of clinical features. *Pediatr Diabetes*, v. 22, n. 6, p. 876-881, 2021.

HULÍN, J.; ŠKOPKOVÁ, M.; VALKOVIČOVÁ, T.; MIKULAJOVÁ, S.; ROSOLANKOVÁ, M.; PAPCUN, P.; GAŠPERÍKOVÁ, D.; Juraj STANÍK, J. Clinical implications of the glucokinase impaired function - GCK MODY today. *Physiological research*, v. 69, p. 995-1011, 2020.

IVANOSHCHUK, D. E.; SHAKHTSHNEIDER, E. V.; OVSYANNIKOVA, A. K.; MIKHAILOVA, S. V.; RYMAR, O. D.; OBLAUKHOVA, V. I.; YURCHENKO, A. A.; VOEVODA, M. I. A rare splice site mutation in the gene encoding glucokinase/hexokinase 4 in a patient with MODY type 2. *Vavilovskii Zhurnal Genet Seleksii*, v.24, n. 3, p. 299-305, 2020.

JIANG, F.; YAN, J.; ZHANG, R.; MA, X.; BAO, Y.; GU, Y.; HU, C. Functional Characterization of a Novel Heterozygous Mutation in the Glucokinase Gene That Causes MODY2 in Chinese Pedigrees. *Front Endocrinol (Lausanne)*, v. 12, n. 803992, p. 1-8, 2021.

KIRZHNER, A.; BARAK, O.; VAISBUCH, E.; ZORNITZKI, T.; SCHILLER, T. The Challenges of Treating Glucokinase MODY during Pregnancy: A Review of Maternal and Fetal Outcomes. *Int J Environ Res Public Health*, v.19, n. 5980, p. 1-11, 2022.

KLEINBERGER, J. W.; POLLIN, T. I. Undiagnosed MODY: Time for Action. *Curr Diab Rep*, v. 15, n. 12, 2015.

KOPACZ-PETRANYUK, K.; BRANDT-VARMA, A.; BURACZEWSKA, M.; WOLOSZYN-DURKIEWICZ, A.; PECZYNSKA, J.; PREIS, K.; JAROSZ-CHOBOT, P.; SZADKOWSKA, A.; MLYNARSKI, W.; MYSLIWIEC, M. Neonatal outcome and diabetes course in children with GCK-MODY born from women with GCK-MODY. *Pediatric Endocrinology Diabetes and Metabolism*, v. 24, n. 4, p. 167-173, 2018.

LEIVA-GEA, I.; SANCHEZ-ALCOHOLADO, L.; MARTIN-TEJEDOR, B.; Daniel CASTELLANO-CASTILLO, D.; MORENO-INDIAS, I.; URDA-CARDONA, A.; TINAHONES, F. J.; FERNANDEZ-GARCIA, J. C.; QUEIPO-ORTUNO, M. I. Gut

microbiota differs in composition and functionality between children with type 1 diabetes and MODY2 and healthy control subjects: a casecontrol study, **Diabetes Care**, v. 41, p. 2385–2395, 2018.

LI, X.; TING, T. H.; SHENG, H.; LIANG, C. L.; SHAO, Y.; JIANG, M.; XU, A.; LIN, Y.; LIU, L. Genetic and clinical characteristics of Chinese children with Glucokinase-maturity-onset diabetes of the young (GCK-MODY). **BMC Pediatrics**, v. 18, n. 101, p 1-8, 2018.

MAGALHAES, A. L. F.; MOTTA, F. T.; ALCÂNTARA, A. E. E.; FRANCO, P. C.; CABRAL, H. R.; COSTA-RIQUETTO, A.D.; SANTANA, L. S.; TELES, M. G. Probability of MODY in a cohort of 209 Brazilians with young onset diabetes. **Pediatr Diabetes**, v. 20, p.162, 2019.

MASCOLO, E.; LIGUORI, F.; MECARELLI, L. S.; AMOROSO, N.; MERIGLIANO, C.; AMADIO, S.; VOLONTÉ, C.; CONTESTABILE, R.; TRAMONTI, A.; VERNI, F. Functional Inactivation of *Drosophila*GCK Orthologs Causes Genomic Instability and Oxidative Stress in a Fly Model of MODY-2. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 918, p. 1-16, 2021.

MATSCHINSKY, F. M.; WILSON, D. F. The Central Role of Glucokinase in Glucose Homeostasis: A Perspective 50 Years After Demonstrating the Presence of the Enzyme in Islets of Langerhans. **Front. Physiol**, v. 10, n. 148, 2019.

NAKASATO, Y.; TERASHITA, S.; KUSABIRAKI, S.; HORIE, S.; WADA, T.; NAKABAYASHI, M.; NAKAMURA, M.; YORIFUJI, T. Glucokinase maturity-onset diabetes of the young as a mimicker of stress hyperglycemia: a case report. **Clinical Pediatric Endocrinology**, v.32, n.1, p. 72-75, 2023.

NOMURA, N.; IIZUKA, K.; GOSHIMA, E.; HOSOMICHI, K.; TAJIMA, A.; KUBOTA, S.; LIU, Y.; TAKAO, K.; KATO, T.; MIZUNO, M.; HIROTA, T.; SUWA, T.; HORIKAWA, Y.; YABE, D. Glucokinase-maturity onset diabetes mellitus in the young suggested by factory-calibrated glucose monitoring data: a case report. **Endocrine Journal**, v. 69, n. 4, p. 473-477, 2022.

PIHOKER, C.; GILLIAM, L. K.; ELLARD, S.; DABELEA, D.; DAVIS, C.; DOLAN, L. M.; GREENBAUM, C. J.; IMPERATORE, G.; LAWRENCE, J. M.; MARCOVINA, S. M.; MAYER-DAVIS, E.; RODRIGUEZ, B. L.; STECK, A. S.; WILLIAMS, D. E.; HATTERSLEY, A. T. SEARCH for Diabetes in Youth Study Group. Prevalence, characteristics and clinical diagnosis of maturity onset diabetes of the young due to mutations in HNF1A, HNF4A, and glucokinase: results from the SEARCH for Diabetes in Youth. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 98, n. 10, p. 4055-4062, 2013.

POLLAK, C. F.; LAGOS, L. M.; SANTOS, M. J. L.; POGGI, H.; URZÚA, C. A.; RUMIÉ, C. H. Diabetes mellitus por mutación en el gen de glucokinasa. Caso clínico [Diabetes mellitus caused by a mutation of glucokinase gene. Report of an affected family]. **Revista Médica de Chile**, v. 145, n.9, 2017.

RAMOS, C. M.; VIEIRA, S. V.; MASCARENHAS, R. G.; MASCARENHAS, M. Estudo de revisão sobre a interferência de hipoglicemiantes orais no exame químico de

urina. **Revista Uniara**, v. 18, n. 2, 2015.

RODACKI, M.; TELES, M., GABBAY, M.; MONTENEGRO, R., BERTOLUCI, M. Classificação do diabetes. **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes**. 2023.

RUDLAND, V. L. Diagnosis and management of glucokinase monogenic diabetes in pregnancy: current perspectives. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 12, p. 1081–1089, 2019.

SALINA, A.; BASSI, M.; ALOI, C.; STRATI, M. F.; BOCCIARDI, R.; D'ANNUNZIO, G.; MAGHNIÉ, M.; MINUTO, N. "Pesto" Mutation: Phenotypic and Genotypic Characteristics of Eight GCK/MODY Ligurian Patients. **Int J Mol Sci**, v. 24, n. 4034, p. 1-7, 2023.

SHEPHERD, M.; SHIELDS, B.; HAMMERSLEY, S.; HUDSON, M.; MCDONALD, T. J.; COLCLOUGH, K.; ORAM, R. A.; KNIGHT, B.; HYDE, C.; COX, J.; MALLAM, K.; MOUDIOTIS, C.; SMITH, R.; FRASER, B.; ROBERTSON, S.; GREENE, S.; ELLARD, S.; PEARSON, E. R.; HATTERSLEY, A. T. Systematic population screening, using biomarkers and genetic testing, identifies 2.5% of the U.K. pediatric diabetes population with monogenic diabetes. **Diabetes Care**, v. 39, n. 11, p. 1879-1888, 2016.

SHIELDS, B. M.; HICKS, S.; SHEPHERD, M.H.; COLCLOUGH, K.; HATTERSLEY, A. T.; ELLARD, S. Maturity-onset diabetes of the young (MODY): how many cases are we missing? **Diabetologia**, v. 53, p. 2504–2508, 2010.

SHIELDS, B. M.; SHEPHERD, M.; HUDSON, M.; MCDONALD, T. J.; COLCLOUGH, K.; PETERS, J.; KNIGHT, B.; HYDE, C.; ELLARD, S.; PEARSON, E.; HATTERSLEY, A. T. Population-based assessment of a biomarker-based screening pathway to aid diagnosis of monogenic diabetes in young-onset patients. **Diabetes Care**, v. 40, n. 8, p. 1017–1025, 2017.

SPÉGEL, P.; EKHOLM, E.; TUOMI, T.; GROOP, L.; MULDER, H.; FILIPSSON, K. Metabolite profiling reveals normal metabolic control in carriers of mutations in the glucokinase gene (MODY2). **Diabetes**, v.62, p. 653-661, 2013.

STANIK, J.; DUSATKOVA, P.; CINEK, O.; VALENTINOVA, L.; HUCKOVA, M.; SKOPKOVA, M.; DUSATKOVA, L.; STANIKOVA, D.; PURA, M.; KLIMES, I.; LEBL, J.; GASPERIKOVA, D.; PRUHOVA, S. De novo mutations of GCK, HNF1A and HNF4A may be more frequent in MODY than previously assumed. **Diabetologia**, v. 57, p. 480-484, 2014.

STEELE, A. M.; SHIELDS, B. M.; WENSLEY, K. J.; COLCLOUGH, K.; ELLARD, S.; HATTERSLEY, A. T. Prevalence of vascular complications among patients with glucokinase mutations and prolonged, mild hyperglycemia. **JAMA**, v. 331, n. 3, p. 279–286, 2014.

TARANTINO, R. M.; ABREU, G. M.; DE FONSECA, A. C. P.; KUPFER, R.; PEREIRA, M. F. C.; JÚNIOR, M. C.; ZAJDENVERG, L.; RODACKI, M. MODY

probability calculator for *GCK* and *HNF1A* screening in a multiethnic background population. **Arch Endocrinol Metab**, v. 64, n. 1, p. 17-23, 2020.

TIMSIT, J.; CIANGURA, C.; DUBOIS-LAFORGUE, D.; SAINT-MARTIN, C.; BELLANNE-CHANTELOT, C. Pregnancy in Women With Monogenic Diabetes due to Pathogenic Variants of the Glucokinase Gene: Lessons and Challenges. **Frontiers in endocrinology**, v. 12, n. 802423, p. 1-11, 2022.

URAKAMI, T. Maturity-onset diabetes of the young (MODY): current perspectives on diagnosis and treatment. **Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy**, v. 12, p. 1047-1056, 2019.

ÜSTAY, O.; ATES, E. A.; APAYDIN, T.; ELBASAN, O.; POLAT, H.; GÜNHAN, G.; DINÇER, C.; SEKER, L.; YABACI, A.; GÜNEY, A. I.; YAVUZ, D. G. When do we need to suspect maturity onset diabetes of the young in patients with type 2 diabetes mellitus? **Arch Endocrinol Metab**, v. 66, n. 1, 2022.

VIANA, M. V.; MORAES, R. B.; FABBRIN, A. R.; SANTOS, M. F.; GERCHMAN, F. Avaliação e tratamento da hiperglicemia em pacientes graves. **Rev Bras Ter Intensiva**, v. 26, n.1, p. 71-76, 2014.

WEDRYCHOWICZ, A.; TOBOR, E.; WIL, M.; ZIÓLKOWSA-LEDWITH, E.; RAMS, A.; WZOREK, K.; SABAL, B.; STELMACH, M.; STARZYK, J. B. Phenotype Heterogeneity in Glucokinase-Maturity-Onset Diabetes of the Young (*GCK*-MODY) Patients. **J Clin Res Pediatr Endocrinol**, v. 9, n. 3, p. 246-252, 2017.

ZHOU, W.; CHEN, M.; ZHOU, H.; ZHANG, Z. Heterozygous lys169Glu mutation of glucokinase gene in a Chinese family having glucokinase-maturity-onset diabetes of the young (*GCK*-MODY). **J Postgrad Med.**, v. 65, n. 4, p. 241-243, 2019.

# ASPECTOS GENÉTICOS DA SÍNDROME DE RETT: ESTRUTURA E FUNÇÃO DO GENE *MECP2*

## ASPECTOS GENÉTICOS DA SÍNDROME DE RETT: ESTRUTURA E FUNÇÃO DO GENE *MECP2*

Brenda Luiza Bairral Salvador <sup>1</sup>  
Carolina Batista Ariza Tamarozzi <sup>2</sup>  
Andressa Megumi Niwa<sup>3</sup>

123

### RESUMO

A síndrome de Rett é uma grave desordem genética do desenvolvimento neurológico que afeta predominantemente mulheres, com início de seus sintomas na primeira infância. Na maioria dos casos, a síndrome de Rett está relacionada à proteína de ligação Methyl-CpG-binding protein 2 que causa mutações no gene *MECP2*, com herança dominante ligada ao cromossomo X. Seus sintomas são severos e progressivos, e pouco conhecidos. Esse estudo visa ampliar o entendimento sobre a síndrome de Rett, já que a mutação do gene *MECP2* desempenha um papel fundamental em sua patogênese. Dessa forma, esse estudo tem por objetivo investigar a associação entre a mutação do gene *MECP2* e os sintomas clínicos, analisar as opções de tratamentos disponíveis e contribuir para o avanço do conhecimento sobre essa síndrome e suas complicações. Dessa forma, a fim de descrever os aspectos genéticos e clínicos da síndrome de Rett, o artigo foi desenvolvido por meio de uma revisão bibliográfica através de dados, conceitos e técnicas retirados de artigos científicos, teses e dissertações sobre o tema em bibliotecas, sites e plataformas online. O diagnóstico da síndrome de Rett é estabelecido com base em critérios clínicos, e não depende só da detecção da mutação do gene *MECP2*, mas é considerada a mais afetada. Portanto, compreender melhor essa relação é crucial para melhorar o diagnóstico e a gestão clínica das pessoas afetadas por essa síndrome a fim de melhorar a qualidade de vida.

**Palavras-chave:** *MECP2*; murinos; Metil-CpG 2; neurodesenvolvimento.

### ABSTRACT

Rett syndrome is a serious genetic neurodevelopmental disorder that predominantly affects women, with symptoms beginning in early childhood. In most cases, Rett syndrome is related to the Methyl-CpG-binding protein 2 that causes lesions in the *MECP2* gene, with dominant inheritance linked to the X chromosome. Its symptoms

<sup>1</sup> Brenda Luiza Bairral Salvador: Graduanda do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia - UniFil. [brendaluiza@edu.unifil.br](mailto:brendaluiza@edu.unifil.br)

<sup>2</sup> Andressa Megumi Niwa: Professora do curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia UniFil. [andressa.niwa@unifil.br](mailto:andressa.niwa@unifil.br).

<sup>3</sup> Carolina Batista Ariza Tamarozzi: Professora do curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia - UniFil. [carolina.ariza@unifil.br](mailto:carolina.ariza@unifil.br)

are severe and progressive, and little known. This study aims to expand the understanding of Rett syndrome, as the *MECP2* gene mutation plays a fundamental role in its pathogenesis. Therefore, this study aims to investigate the association between the *MECP2* gene mutation and clinical symptoms, analyze the available treatment options and contribute to the advancement of knowledge about this syndrome and its complications. Thus, in order to describe the genetic and clinical aspects of Rett syndrome, the article was developed through a bibliographical review using data, concepts and techniques taken from scientific articles, theses and dissertations on the subject in libraries, websites and online platforms. The diagnosis of Rett syndrome is established based on clinical criteria, and does not depend solely on the detection of the *MECP2* mutation, but is considered the most affected. Therefore, better understanding this relationship is crucial to improving the diagnosis and clinical management of people affected by this syndrome in order to improve their quality of life.

**Keywords:** *MECP2*; murines; methyl-CpG 2; neurodevelopment.

## 1 INTRODUÇÃO

A Síndrome de Rett (RTT) é um distúrbio neurológico grave que afeta, em 90% dos casos (PEJHAN, 2021), a proteína 2 de ligação ao metil-CpG que é causada por mutações no gene proteína 2 de ligação ao metil-CpG (*MECP2*), um dos grandes responsáveis pela formação dos neurônios, cujo padrão de herança está ligado a um alelo dominante no cromossomo sexual X (Xq28) (SILVA et al., 2016).

Apesar dessa síndrome ser considerada rara e apresentar incidência de 1:10.000 a cada nascimento no mundo, ainda sim, se trata do segundo transtorno genético que mais afeta o sexo feminino, sendo o primeiro, a síndrome de Down. No sexo masculino, a incidência é de 1:1.000.000, sendo ainda mais difícil de ocorrer e, infelizmente, mais rigoroso por conta do cromossomo X, fazendo com que o paciente chegue a, no máximo, 2 anos de vida como na maioria dos casos relatados (SPLEDORE et al., 2012). Nas meninas, a expectativa de vida é maior, podendo chegar até a sexta década (SPLEDORE et al., 2012).

Além de afetar o gene *MECP2*, o transtorno da RTT, também, possui variantes congênitas, que podem ser causadas por deleções submicroscópicas nos genes *FOXP1* (do inglês: *Forkhead Box G1*) e ciclina-dependente de quinase 5 (*CDKL5*), que prejudicam o desenvolvimento encefálico. Ocorrem, também, alterações em outros locais do gene *MECP2* e, supostamente, há deleções em mais genes, que ainda estão em análises para confirmação (FAHMI et al., 2019)

Os sintomas são, facilmente, observados por prejudicarem as interações sociais, tendo em vista a ligação com exclusão escolar, desvalorização profissional e problemas familiares. A RTT pode ser, facilmente, confundida com outros transtornos, por conta da similaridade dos sintomas nos estágios iniciais, como por exemplo, o autismo (HERNÁNDEZ et al., 2018). A maioria dos pacientes apresentam perda nas habilidades de comunicação, coordenação motora, comportamentos estereotipados, microcefalia, apraxia da marcha, convulsões e perda de expressões faciais (HERNÁNDEZ et al., 2018).

Os sintomas vão se agravando a cada fase da síndrome, conforme descrito por Hedberg em critérios clínicos, em 1983. A fase 1, também, chamada de início precoce, de modo geral se inicia aos 6 meses de idade e se prolonga até os 18 meses. Nesse estágio, a criança pode apresentar sintomas parecidos com o autismo, como perda do contato visual, desinteresse em brinquedos e amizades, manias como torcer as mãos e, também, podem apresentar microcefalia. Ademais, a fase 2, chamada de regressão do desenvolvimento ou fase destrutiva rápida, tende a se iniciar entre 1 e 4 anos de idade onde há perda das habilidades manuais e de fala. Os movimentos repetitivos das mãos como bater palmas e entrelaçar os dedos se tornam mais frequentes, cessando apenas durante o sono. Nessa fase, também, pode ocorrer transtornos respiratórios, como apneia e hiperventilação (FERNÁNDEZ, 2010).

Já, a fase 3 ou fase pseudo-estacionária se inicia, mais ou menos, entre os 2 e 10 anos de idade, podendo durar ainda mais anos (FERNÁNDEZ, 2010). É nessa fase que os sintomas semelhantes ao do autismo diminuem e podem aumentar as habilidades de comunicação e capacidade de interesse em ambientes diferentes, mas, ocorrem convulsões, déficits motores e apraxia (FERNÁNDEZ, 2011). Por fim, o estágio 4, ou fase final da deterioração motora, que podem durar anos e apresentam na maioria dos casos, escoliose, diminuição da mobilidade, fraqueza muscular e rigidez (FERNÁNDEZ, 2010).

Inicialmente, estudos foram realizados para o direcionamento gênico, introduzindo a RTT em murinos ao substituir o gene MecP2 de tipo selvagem por uma que codifica proteína truncada a fim de observar o fenótipo comportamental e progressão da doença, inovador para as pesquisas sobre a RTT, mas que, infelizmente, só funcionou nos murinos (SHAHBAZIAN et al., 2009). Esse estudo abriu

portas para diversos outros experimentos com o gene *MECP2*, no qual é a principal causadora da síndrome. Atualmente, há estudos com fármacos como IGF1 (fator de crescimento semelhante à insulina tipo I), gentamicina, terapias gênicas, métodos moleculares, estudo em organoides cerebrais e até moléculas pequenas que podem aliviar a diminuição de células nervosas (MARCHETTO et al., 2010).

É de extrema importância ter o envolvimento de profissionais da saúde como médicos, psicólogos, audiólogos, fisioterapeutas e professores com especialidade em educação especial (LIRA, 2010).

A RTT apresenta desafios significativos para os indivíduos afetados e suas famílias, devido aos sintomas motores, cognitivos e comportamentais associados. Esse estudo de revisão ressalta a importância da realização desses tratamentos e profissionais envolvidos que, mesmo sem cura, ajudam a amenizar os sintomas, aumentando a qualidade e expectativa de vida dos pacientes com RTT.

## **2 METODOLOGIA**

O presente estudo foi realizado por meio de pesquisa bibliográfica de caráter exploratório e qualitativo contendo dados, conceitos e técnicas retirados de artigos científicos, teses e dissertações sobre o tema em bibliotecas, sites e plataformas online como o SciELO, PubMed e o Google Acadêmico. Este estudo empregou critérios de inclusão e exclusão específicos como parâmetros fundamentais para a seleção criteriosa dos elementos analisados. A fim de obter um trabalho com temas mais atuais, foi dada preferência para trabalhos publicados nos últimos vinte e três anos (2000 a 2023).

## **3 SÍNDROME DE RETT (RTT)**

Perante ao contexto histórico, a RTT foi descrita pela primeira vez em 1966 pelo médico pediatra austríaco Andreas Rett (ROZENSZTRAUCH, 2021), em seu artigo: “Über ein eigenartiges hirnatrophisches Syndrom bei Hyperammonämie im Kindesalter” (“Sobre uma síndrome cerebral peculiar com hiperamonemia na infância”), publicado na revista científica alemã “Wiener Medizinische Wochenschrift” (CAMPOS-CASTELO, 2007). No artigo, foi descrito um atraso no crescimento e

desenvolvimento inicial nos primeiros meses que foram regredindo e causando uma deterioração nas capacidades de interação verbal, distúrbios na locomoção e movimentos repetitivos das mãos em um grupo de 22 meninas previamente saudáveis. Essas crianças começaram a apresentar esses sintomas entre o 6º e o 18º mês de vida, o que resultou em uma parada e retrocesso no processo normal de desenvolvimento (PERCY, 2016; HERNÁNDEZ, 2018).

Os estudos de Andreas Rett possibilitaram outras pesquisas pelo mundo. Em 1978, Ishikawa no Japão, e Hagberg em 1983, na Inglaterra realizaram relatos de ocorrências que apresentavam sintomas semelhantes aos descritos por Andreas Rett, expandindo, assim, as pesquisas e a compreensão desse transtorno e nomeando o transtorno como “Síndrome de Rett” (CAMPOS-CASTELO, 2007). Posteriormente, em 1984, Hagberg publicou uma série de critérios de diagnóstico em uma revista de neurologia sueca, francesa e portuguesa, com atualização em 2002, que são utilizadas até nos dias de hoje (CAMPOS-CASTELO, 2007; PERCY, 2016).

Ao longo do tempo, a RTT foi objeto de investigação e estudos por muitos pesquisadores e profissionais da saúde em todo o mundo. Apesar de não haver cura, as características clínicas distintas desta síndrome foram delineadas, no qual sabemos que se trata de uma mutação genética associada, principalmente, a uma alteração no gene *MECP2* (CAMPOS-CASTELO, 2007).

### 3.1 Estrutura e função do gene *MECP2*

A proteína *MECP2*, em seres humanos, e *Mecp2* em murinos, foi identificada pela primeira vez em 1992 como uma proteína que se liga às regiões do DNA (Ácido Desoxirribonucleico) onde ocorre a metilação de grupos CpG. Com essa descoberta, ficou estabelecido que o gene *MECP2* atua como uma espécie de "leitor" das marcas epigenéticas de metilação presentes no DNA. Em outras palavras, ela desempenha um papel importante na interpretação e influência das modificações químicas que ocorrem no DNA através da metilação dos grupos CpG (SHARIFI, 2021).

A RTT se trata de distúrbio neurológico raro e grave, de herança dominante ligada ao cromossomo X (SILVA et al, 2015), que afeta, na maioria dos casos, a proteína 2 de ligação ao metil-CpG, resultado de mutações no gene *MECP2*, que codifica a proteína na banda 8 da região 2 do braço longo do cromossomo X (Xq28),

representado na figura 1 (CARVAJAL, 2002), entre os genes *L1CAM* e os loci *RCP/GCP*. Além disso, o gene *MECP2* é sujeito a um processo chamado inativação do cromossomo X (XCI) (MATIJEVIC, 2008).

O gene *MECP2* se estende por, aproximadamente, 76 mil quilobases (kb) em sua totalidade. Destacada por ter uma região não traduzida na extremidade 3' (3'-UTR) que é uma das mais extensas identificadas em todo o genoma humano. Além disso, seu segundo íntron é, notavelmente, longo com um comprimento de 60.000 nucleotídeos, o que é incomum (REICHWALD et al., 2000).

Os demais casos são identificados, exclusivamente, com base em avaliação clínica. Antes, nenhum outro gene tinha recebido confirmação de associação com a Há autores que sustentam a possibilidade de envolvimento de genes pertencentes à família de histona deacetilase (HDAC), como o *HDAC 1, 2, 3 e 8*, e o *CDKL5* (RUSSO, 2009).

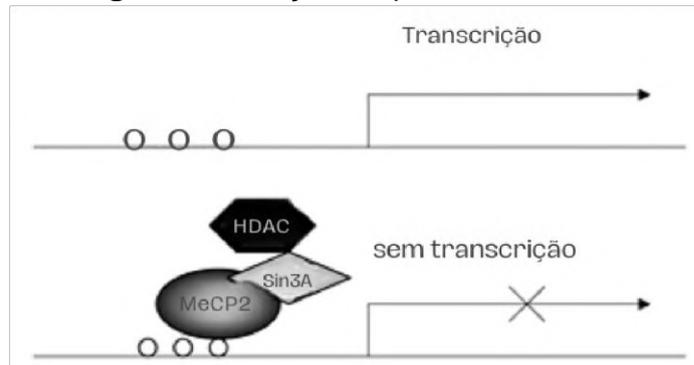
Cerca de 95% dos pacientes que sofrem de RTT apresentam mutações no gene *MECP2* e, descobertas recentes indicaram que dois outros genes, nomeados como gene *CDKL5* e o gene *FOXG1*, podem estar implicados no desenvolvimento dessa síndrome. Além disso, pesquisas demonstraram que o *CDKL5* tem a capacidade de facilitar a liberação do *MECP2* do DNA por meio da fosforilação do *MECP2*. No entanto, a existência de uma relação funcional direta entre essas duas moléculas na RTT ainda é motivo de controvérsia (JIN et al, 2017).

O gene *MECP2* possui duas regiões ativas: o domínio de ligação à metilação CpG, conhecido como Domínio de ligação ao metil-CpG (MBD), e o domínio responsável pela repressão da transcrição, chamado Domínio repressor transcricional (TRD). O primeiro domínio apresenta uma afinidade de 2 a 3 vezes maior pelo DNA metilado, agindo para silenciar genes ao se conectar com resíduos CpG. O segundo domínio, por sua vez, interage com a enzima HDAC, resultando em modificações na estrutura da cromatina por meio da alteração das caudas das histonas. Isso, por sua vez, impede a atividade da maquinaria transcricional, resultando na inibição da expressão do gene (HITE, 2009).

Recentemente, foi evidenciada a interação entre *MECP2* e a proteína ATRX, que pertence à classe das helicases de DNA e ATPases do tipo SWI2/SNF2, e que está associada às mutações na síndrome ATRX, também conhecida como alfa-

talassemia/retardo mental ligado ao X. (MATIJEVIC, 2008). Além disso, a presença da ATRX em neurônios de camundongos deficientes para MecP2 foi comprometida. Os pesquisadores, também, demonstraram que mutações pontuais no domínio de ligação ao DNA de *MECP2* que, normalmente, levariam ao desenvolvimento da RTT, impediram as interações com ATRX em experimentos *in vitro* e afetaram sua localização no contexto *in vivo* (MATIJEVIC, 2008).

**Figura 1 - Função da proteína MECP2.**

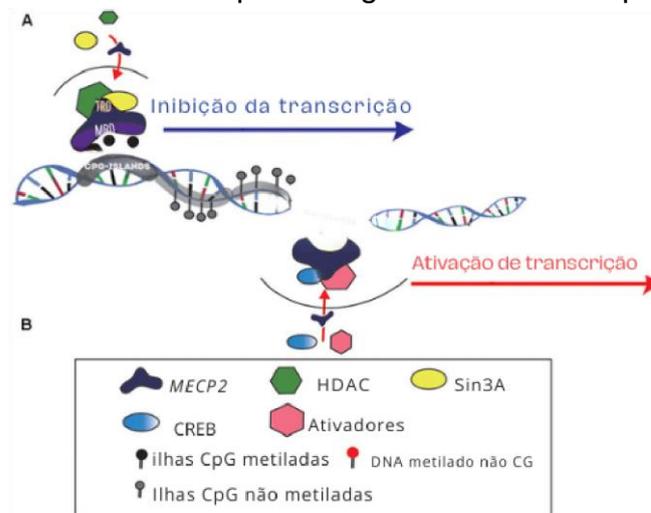


Fonte: Adaptado de MATIJEVIC, 2008.

Antes do ano de 2004, a compreensão predominante era que o gene *MECP2* era o resultado da expressão de três éxons, formando uma única isoforma proteica. No entanto, uma equipe de pesquisadores do Hospital *for Sick Children*, em Toronto, identificou a existência de um novo éxon localizado antes dos éxons do gene *MECP2* já conhecidos. Esse novo éxon foi observado como capaz de se combinar com os éxons 3 e 4, resultando na criação de uma nova isoforma proteica. Essa nova isoforma apresentava uma região amino-terminal diferente daquela encontrada na isoforma *MECP2*, originalmente, descrita (SHARIFI, 2021).

A isoforma apresenta um padrão de expressão temporal específico durante o desenvolvimento do cérebro. Por exemplo, no hipocampo de camundongos, a detecção de *MECP2* E1 já ocorre em E14, enquanto que, o *MECP2* E2 só é detectado em E18. Antes, acreditava-se que o gene *MECP2* se ligava apenas nas ilhas CpG metiladas. No entanto, descobertas recentes indicam que o gene *MECP2* pode, também, se unir ao DNA metilado em locais não-CG e influenciar a transcrição de genes relacionados com doenças no cérebro de camundongos adultos (Figura 1) (JIN, 2017).

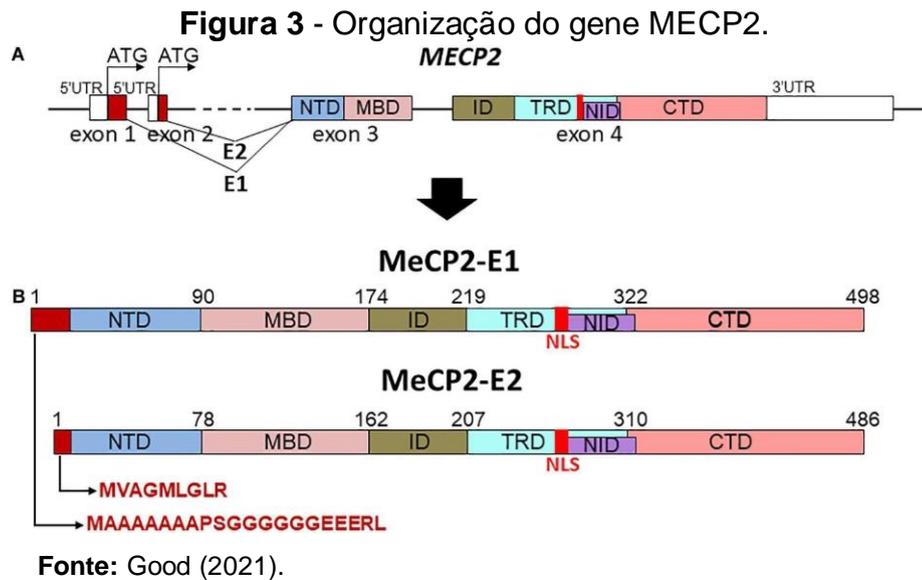
**Figura 2** - Processo de expressão gênica controlada pelo *MECP2*.



Fonte: Adaptado de JIN, 2017.

O gene *MECP2* é encontrado em todos os vertebrados e, tanto em seres humanos quanto em camundongos (MNATZAKANIAN et al., 2004), são constituídos por duas variantes estruturais que, predominantemente, expresso no sistema nervoso central (SNC), no qual desempenha um papel primordial na modulação do desenvolvimento sináptico (PEJHAN, 2021). Esse segmento genético, como ilustrado na Figura 4, abriga quatro segmentos exônicos distintos, (éxons 1–4) e três íntrons (íntrons 1–3) sendo localizados no cromossomo X (JIN, 2017), os quais orquestram a síntese de duas variantes: *MECP2A*, que emerge da tradução de todos os éxons, e *MECP2B* se materializa através da codificação enraizada nos éxons 1, 3 e 4. (MATIJEVIC, 2008). No cérebro, a quantidade de transcrição do éxon 1 (E1) do *MECP2* é, consideravelmente, superior à de outros éxons. É importante notar que, mutações ocorridas no éxon 1 do *MECP2* são capazes por si só de desencadear a RTT (JIN, 2017).

Nos seres humanos, a variante *MECP2* E1 é produzida a partir dos éxons 1, 3 e 4, sendo que o éxon 2 é omitido por meio do processo de splicing alternativo. Como resultado desse processo, a proteína resultante é mais extensa, composta por 498 aminoácidos e apresenta 21 resíduos N-terminais exclusivos. Por outro lado, a variante *MeCP2* E2 é gerada a partir dos éxons 2, 3 e 4, e possui 9 resíduos N-terminais únicos (MNATZAKANIAN et al., 2004).



No contexto neurológico, o gene *MECP2* é mais prevalente no tecido cerebral em comparação com os tecidos periféricos. Sua presença é notada nos neurônios, excluindo-se as células da glia, e encontra-se localizada no núcleo deles. Além disso, observa-se um aumento em seus níveis em neurônios corticais durante o processo de neurodesenvolvimento. Essa pauta de expressão insinua que a proteína MECP2 pode desempenhar um papel na preservação ou regulação do amadurecimento e da adaptabilidade dos neurônios (MARTINS, 2012). Em contrapartida, evidências crescentes sugerem que, a anormalidade da proteína MECP2, também, desempenha um papel importante no dano da substância branca e/ou disfunção glial na RTT (JIN, 2017).

O papel desempenhado pela proteína MECP2 no sistema nervoso central (SNC) é de suma importância, uma vez que exerce influência sobre a expressão dos genes, com a capacidade de ativar ou reprimir a transcrição de genes específicos que desempenham um papel crucial no desenvolvimento e na funcionalidade das células neurais (MARANO et al., 2021).

Para que tais atividades sejam cumpridas, a preservação da MECP2 é imperativa, tanto para o processo de formação de células nervosas no estágio embrionário quanto para o desenvolvimento do sistema nervoso durante a gestação e após o nascimento. Isso é essencial para facilitar a formação de conexões sinápticas e promover a plasticidade neural, fatores que contribuem de maneira significativa para o desenvolvimento neuropsicomotor (VIDAL et al., 2019).

É importante ressaltar que o gene *MECP2* pode, também, ser o causador de outros transtornos do neurodesenvolvimento e anormalidades genéticas, como o autismo, esquizofrenia, transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH), deficiência intelectual, atraso no desenvolvimento, transtorno obsessivo compulsivo (TOC), e em pacientes com deficiências cognitivas e comportamentais leves (VEERARAGAVAN, et al, 2016).

### 3.2 Mutações no gene *MECP2*

As diversas variações genéticas do gene *MECP2* possui alterações *missense*, *frameshift* e *nonsense*, além também de deleções. A variedade dessas mutações pode servir para justificar a grande quantidade de manifestações fenotípicas observadas (MARTINS, 2012).

A RTT pode se manifestar de forma típica ou atípica. Consideram-se típicas como modificações no gene *MECP2* que, em 2019, teve o registro de mais de 600 mutações pontuais identificadas nesse gene relacionadas com a RTT. Oito dessas mutações, nomeadamente, R106W, R133C, T158M, R168X, R255X, R270X, R294X e R306C, são responsáveis por 70% dos casos dela. (ARON et al., 2019). Ainda cerca de 5-10% dos pacientes diagnosticados com RTT clássica exibem pequenas deleções, localizadas no domínio C-terminal do gene *MECP2* (FRULLANTI et al., 2019).

Das mutações mencionadas acima, a mutação mais frequente é a R168X. Embora as mutações estejam distribuídas em todo o gene, existe uma concentração de mutações *missense* na região 5' do TRD, principalmente no MBD. Todas essas mutações envolvem aminoácidos que são conservados ao longo da evolução em domínios funcionais da proteína. As mutações *nonsense*, *frameshift* e de *splicing* ocorrem mais distantes do MBD e resultam na interrupção prematura da formação da proteína. Ainda, deleções maiores que afetam múltiplos nucleotídeos ocorrem, principalmente, na região do domínio C-terminal. Embora elas, geralmente, afetem a mesma região, é raro encontrar deleções completamente idênticas. Acredita-se que, as proteínas truncadas ainda sejam capazes de se ligar ao DNA metilado, mas não podem interagir, adequadamente, com o correpressor SIN3A (MATIJEVIC, 2008).

No Rett Base, site de dados da RTT, foram atualizadas mais de 800 mutações

no gene *MECP2*, sendo as mais variantes frameshift com 315 e missense com 223 modificações (RETT BASE, 2014).

De modo efetivo, variações parciais que causam perda de função limitada, como R133C e mutações truncadas de aparecimento tardio, geralmente, resultam em um quadro clínico menos severo, ao passo que mutações missense (por exemplo, R306C ou T158M) e variações truncadas que ocorrem de forma precoce, como R294X, estão correlacionadas com fenótipos de gravidade moderada. Mutações completas que resultam em perda total de função (por exemplo, R255X ou outras truncadas no início do gene) e deleções extensas, em geral, culminam em um curso clínico extremamente grave da RTT. (CUDDAPAH et al., 2014; FRULLANTI et al., 2019)

É notável que mutações localizadas na região NID (NCoR interaction) (por exemplo, R294X) aniquilam a interação com o complexo correpressor transcricional CoR/SMRT e, dessa maneira, interrompem a atividade repressora do MeCP2. De forma análoga, variações que afetam o domínio MBD (por exemplo, R133C) reduzem, parcialmente, a capacidade de se ligar ao DNA metilado, validando, assim, a relevância biológica desses dois domínios (CUDDAPAH et al., 2014; FRULLANTI et al., 2019).

Os casos atípicos ocorrem quando há envolvimento de genes adicionais vinculados ao cromossomo X, como o *CDKL5* (KYLE et al., 2018), que está associado com variantes de início precoce e congênitas de crises, subsequente de mutações *CDKL5*, bem como nas proteínas G1, codificadas pelo gene *FOXP1* (VIDAL et al., 2019).

Grande parte das alterações genéticas ocorrem de um nucleotídeo para outro, conhecidas como mutações de transição e, na RTT ocorre na forma de uma base de citosina (C) sendo substituída por uma base de timina (T). Essas mutações tendem a ocorrer em locais específicos do DNA chamados de *hotspots* CpG. Esses hotspots são regiões do DNA onde a citosina, normalmente, é metilada, e essa metilação pode variar na linhagem masculina. Essas mutações de transição C>T, incluindo aquelas nessa síndrome, são, frequentemente, resultado da desaminação oxidativa da citosina metilada de forma anormal (GOOD, 2021).

Embora a RTT seja mais comum em meninas, elas apresentam uma condição

conhecida como mosaico, onde possuem células com diferentes expressões no gene *MECP2* (SHARIFI, 2021). A maioria das mutações presentes nela ocorre, espontaneamente, nas células germinativas paternas (IP, 2018). Apesar disso, a função da proteína *MECP2* tem sido, predominantemente, estudada em camundongos machos que não possuem o gene *MECP2*, pois a ausência desse gene em todas as células cerebrais está associada aos fenótipos mais graves da doença (SHARIFI, 2021).

A inativação do cromossomo X (XCI) regula o padrão de silenciamento de um dos cromossomos X de todas as células durante o início do desenvolvimento embrionário feminino. Como resultado, em uma paciente do sexo feminino, aproximadamente, metade de suas células expressa o alelo *MECP2* normal (tipo selvagem), enquanto a outra metade expressa o alelo mutado (XCI aleatório) (VIANNA, 2019). No entanto, quando esse processo de XCI se torna distorcido e favorece a inativação do alelo mutante *MECP2* na maioria das células, os sintomas clínicos podem não ser evidentes (como ocorre em portadoras assintomáticas) ou podem se manifestar de forma muito branda. (VIANNA, 2019)

Por outro lado, quando há uma inativação preferencial do alelo *MECP2* do tipo selvagem, isso tende a agravar o quadro clínico. Portanto, a extensão da assimetria no processo de XCI é um fator determinante da variabilidade clínica observada em pacientes com RTT (VIANNA, 2019).

### 3.3 Aspectos clínicos e diagnóstico

De acordo com as diretrizes estabelecidas pela Classificação Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde, décima revisão (CID-10), a RTT é categorizada sob o código F.84, sendo enquadrada como um dos Transtornos Globais do Desenvolvimento. Esse grupo de transtornos é caracterizado por apresentar modificações qualitativas nas interações sociais recíprocas, nos padrões de comunicação, bem como manifestar um repertório de interesses e atividades que são restritos, estereotipados e repetitivos (PAZETO et al., 2013).

A RTT é uma condição cujo os cursos são determinados pela localização, tipo e gravidade das mutações genéticas, bem como pela inativação do cromossomo X (MATIJEVIC, 2008). A maioria das pesquisas sobre a inativação do cromossomo X

(XCI) até o momento envolveu a análise do padrão de XCI, usando linfócitos do sangue periférico ou linhagens de células linfoblastóides estabelecidas. No entanto, descobriu-se que, as células sanguíneas não são o modelo ideal para investigar os mecanismos epigenéticos e genéticos subjacentes à patogênese da RTT, uma vez que, não há evidências de que o padrão exato de XCI encontrado nos tecidos cerebrais seja o mesmo. (MATIJEVIC, 2008).

De fato, há pelo menos um caso documentado que demonstra a falta de correlação entre o padrão de XCI observado em leucócitos e aquele presente no cérebro. Foi observado que uma menina com RTT clássica, que possuía uma mutação no cromossomo X paterno, apresentava inativação do cromossomo X paterno nas células sanguíneas periféricas. No entanto, é conhecido que, em células cerebrais altamente diferenciadas, especialmente em neurônios, a expressão de genes difere daquela observada em linfócitos do sangue periférico (MATIJEVIC, 2008).

Dessa forma, a diversidade e a ampla gama de características clínicas apresentadas por indivíduos com RTT são resultado dessas variações (YOUNG et al., 2011). Apesar da ligação com fatores genéticos, a determinação da condição se dá através de avaliação clínica estabelecida no Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-V), fundamentada no padrão característico de declínio no desenvolvimento neurológico (MARTINS, 2012; KYLE, 2018).

**Tabela 1 - Requisitos de Diagnóstico para Síndrome de Rett (RTT).**

<p>Considere a possibilidade de diagnóstico quando for observada uma diminuição no ritmo de crescimento do perímetro craniano após o nascimento.</p> <p>Necessários para o RTT típico ou clássico:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ocorrência de um período de retrocesso seguido por restabelecimento ou estabilização.</li> <li>2. Satisfação de todos os critérios principais e exclusão de todos os critérios de não aplicação.</li> <li>3. Embora não sejam imprescindíveis, os critérios de suporte frequentemente se manifestam na RTT típica.</li> </ol> <p>Necessários para o RTT atípico ou variante:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Manifestação de uma fase de retrocesso seguida por melhora ou estabilização.</li> <li>2. Preenchimento de, no mínimo, 2 dos 4 critérios primordiais.</li> <li>3. Atendimento a 5 dos 11 critérios de suporte.</li> </ol> <p>Critérios de inclusão:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Perda parcial ou total das habilidades manuais intencionais previamente</li> </ol>
---

adquiridas.

2. Perda parcial ou completa da linguagem verbal previamente adquirida.
3. Observação de anomalias na marcha: deficiência (dispráxico) ou ausência de habilidade.
4. Manifestação de movimentos estereotipados das mãos, como torcer/apertar, bater palmas/bater na boca e automatismos de lavagem/esfregagem.

Critérios de Exclusão para RTT típico:

1. Lesão cerebral resultante de trauma (peri ou pós-natal), doença neurometabólica ou infecção grave que cause problemas neurológicos.
2. Evidência de desenvolvimento psicomotor acentuadamente anormal nos primeiros 6 meses de vida.

Critérios de apoio para RTT atípico:

1. Distúrbios respiratórios durante a vigília.
2. Bruxismo durante a vigília.
3. Padrão de sono prejudicado.
4. Tônus muscular anormal.
5. Distúrbios vasomotores periféricos.
6. Escoliose/cifose.
7. Retardo no crescimento.
8. Diminuição do tamanho e temperatura das mãos e pés.
9. Expressões de riso/choro inadequadas.
10. Resposta diminuída à sensação de dor.
11. Intensa comunicação visual, como "apontar o olho".

**Fonte:** Adaptado de Neul et al. (2010).

A RTT é classificada em dois espectros clínicos: a forma clássica, que exhibe achados clínicos típicos, e a variante, que apresenta elementos clínicos incompletos (HAGBERG, 2002). Esses critérios são considerados como padrão para a seleção de pacientes com RTT e, são utilizados para avaliar a presença de marcadores biológicos (HUPPKE, 2003). O indivíduo com ela pode apresentar uma diversidade de características clínicas que surgem em diferentes momentos do desenvolvimento do indivíduo afetado (MAFALDA, 2018) e a compreensão desses critérios é fundamental para melhor compreender a evolução da doença e suas implicações clínicas em cada fase (PAZETO et al., 2013).

Nas pacientes que atendem aos critérios diagnósticos, é essencial realizar uma análise do DNA para confirmar a presença de mutações no gene *MECP2*. É importante destacar que, devido à fase em que a RTT se encontra, outros comprometimentos clínicos, como encefalopatias não-progressivas, Síndrome de

Angelman, Autismo e doenças metabólicas, devem ser considerados (VEIGA, 2002).

Já foi desenvolvido um modelo animal para estudar a RTT usando camundongos transgênicos que possuem uma mutação no gene *MECP2*, resultando em uma versão truncada do gene. Esses camundongos não mostram nenhuma anormalidade aparente nas primeiras seis semanas de vida, mas, após esse período, começam a exibir respostas alteradas em testes de suspensão pela cauda. À medida que envelhecem e atingem a marca dos oito meses, observam-se algumas mudanças na pele e o surgimento de episódios convulsivos. Além disso, foi identificado um aumento na acetilação de histonas nesses animais. Esse fenômeno afeta a estrutura da cromatina em determinadas áreas do cérebro, particularmente, no córtex e no cerebelo (MERCADANTE, 2006).

### 3.5 Diagnóstico diferencial

Conforme a RTT progride em suas diferentes fases, é importante considerar diversas condições no diagnóstico diferencial. Essas podem incluir patologias de natureza permanente, como paralisia cerebral e outras encefalopatias estáveis, a síndrome de Angelman, o autismo infantil, bem como diversas doenças metabólicas, como as lipofuscinoses, por exemplo. (SCHWARTZMAN, 2003).

Além dos critérios clínicos, é realizado no paciente com RTT para seu diagnóstico triagem inicial por meio da técnica dHPLC (WAVE, Transgenomic) e sequenciamento genético (SPLENDORE, 2012).

Para a triagem de mutações por dHPLC, é feito a amplificação, por meio de PCR, de fragmentos de éxon do gene *MECP2*. Os fragmentos amplificados são sujeitos à análise cromatográfica no aparelho WAVE, e a curva de eluição é comparada a um controle isento de mutação no fragmento analisado. (SPLENDORE, 2012).

No teste de sequenciamento direto, os fragmentos do gene *MECP2* são amplificados por PCR. Os sequenciamentos são conduzidos em sequenciadores automáticos. (SPLENDORE, 2012).

### 3.6 Tratamento

Quanto ao tratamento, é importante ressaltar que não existe uma cura e que, atualmente, a abordagem terapêutica para essa condição é focada na gestão dos sintomas e no fornecimento de suporte, necessitando de uma equipe multidisciplinar de profissionais de saúde (BLANCO, 2006).

Muitas vezes, são prescritos medicamentos para lidar com as questões respiratórias irregulares e as dificuldades motoras associadas à síndrome. No controle das convulsões, são utilizados medicamentos antiepiléticos, sendo os mais conhecidos a carbamazepina, o ácido valproico e o fenobarbital. Os distúrbios no padrão de sono, como despertares frequentes e episódios de riso convulsivo, podem ser amenizados com o uso de melatonina. (BLANCO, 2006).

Ademais, foi realizado um tratamento farmacológico para recuperação do fenótipo neuronal da RTT, investigando o uso de IGF1, no qual atuou de maneira inespecífica aumentando a quantidade de sinapses em clones, ainda sim conseguiu estimular neurônios glutamatergicos além dos parâmetros normais (MARCHETTO et al, 2010). Também foi testado a gentamicina para a restauração da função de neurônios derivados de células-tronco pluripotentes induzidas (iPSCs), que carregam uma mutação que leva à parada prematura na produção do gene *MECP2*. Nisso, descobriram que uma pequena dose de gentamicina foi suficiente para aumentar os níveis normais da proteína MECP2 nos neurônios que foram afetados, restaurando as sinapses glutamatergicas (MARCHETTO et al., 2010).

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo proporcionou uma visão abrangente e esclarecedora da RTT, destacando a importância de investigar a mutação do gene *MECP2* em sua etiologia, sintomas e estratégias terapêuticas disponíveis.

A RTT é uma condição complexa, na qual afeta em sua maior parte, o sexo feminino, apresentando uma ampla gama de sintomas, principalmente, neurológicos e comportamentais. A pesquisa sobre a influência da mutação do gene *MECP2* na expressão clínica da síndrome é essencial para o diagnóstico precoce e a compreensão de suas implicações clínicas.

Em relação aos tratamentos, é evidente que, as opções disponíveis, atualmente, se concentram em aliviar os sintomas e melhorar a qualidade de vida dos pacientes. No entanto, a pesquisa é contínua e necessária para identificar abordagens mais específicas e direcionadas que possam abordar a raiz genética da RTT. Além disso, é crucial enfatizar a importância do apoio multidisciplinar às famílias e cuidadores de indivíduos com essa síndrome, pois enfrentam grandes desafios, e a disponibilidade de recursos e redes de apoio desempenham um papel fundamental no manejo e na qualidade de vida.

Por fim, esse presente estudo ressalta a necessidade contínua de pesquisa e colaboração entre cientistas, médicos e profissionais de saúde para aprofundar nosso entendimento sobre a RTT e o gene *MECP2*. À medida que novas descobertas são feitas, há a esperança de que terapias mais eficazes e direcionadas possam ser desenvolvidas.

## REFERÊNCIAS

- ARON W., C.; RAUCH L., G.; BENAVIDES G., F.; REPETTO L., M. G. Síndrome de Rett: análisis molecular del gen *MECP2* en pacientes chilenas. **Revista Chilena de Pediatría**, 2019.
- BLANCO, N. M., MANRESA, V. S., MESCH, G. J., MELGAREJO, M. J. Síndrome de Rett: criterios diagnósticos. **Revista de Posgrado de la vía cátedra de medicina**, 2006.
- CALDERÓN-GONZÁLEZ R. CALDERÓN-SEPÚLVEDA RF, TREVIÑO J. Fenomenología da Síndrome de Rett. **Gac Med Mex**, 1999.
- CAMPOS-CASTELO, J., FERNANDEZ-MAYORALAS D. M., MUÑOZ-JAREÑO, N., ANTONIO-ARCE, V. S., Síndrome de Rett: 50 años de historia de un trastorno aun no bien conocido, 2007.
- CARVAJAL, C. C., Síndrome de Rett: un nuevo reto para los pediatras. **Íbibliográfica**, 2002.
- CUDDAPAH, V. A., PILLAI, R. B., SHEKAR, K. V., LASE, J. B., MOTIL, K. J., SKINNER, S. A., OLSEN, M. L. Methyl-CpG-binding protein 2 (*MECP2*) mutation type is associated with disease severity in Rett syndrome. **Journal of medical genetics**, (2014).
- FAHMI, M; YASUI, G; SEKI, K; KATAYAMA, S; KANEKO-KAWANO, T; INAZU, T; KUBOTA, Y; ITO, M. In Silico Study of Rett Syndrome Treatment-Related Genes, *MECP2*, *CDKL5*, and *FOXG1*, by Evolutionary Classification and Disordered Region

Assessment. **Int J Mol Sci**, 2019.

FERNÁNDEZ, M.P.L; PUENTE, AF; BARAHONA, M.J.G; PALAFOX A.B. Rasgos conductuales y cognitivos de los Síndromes Rett, Cri-duchat, X frágil y Williams. **Liberabit. Revista de Psicología**, 2010.

GOOD, K., VINCENT, J., AUSIÓ, J. MeCP2: The Genetic Driver of Rett Syndrome Epigenetics, 2021.

HERNÁNDEZ-FLÓREZ, C. E., CONTRERAS-GARCÍA, G. A., Síndrome de Rett: revisión de la literatura con primeros casos reportados en Colombia con caracterización clínica y molecular, 2018.

HITE, K. C.; ADAMS, V. H.; HANSEN, J. C. Recent advances in MeCP2 structure and function. **Biochemistry and Cell Biology**, 2009.

HUPPKE, P., HELD, M., LACCONE, F., HANEFELD, F. The spectrum of phenotypes in females with Rett syndrome. **Brain and Development**, 2003.

IP, J. P. K.; MELLIOS, N.; SUR, M. Rett syndrome: insights into genetic, molecular and circuit mechanisms. **Nature Reviews Neuroscience**, 2018.

JIN, XU-RUI.; CHEN, XING-SHU.; XIAO, LAN. MeCP2 Deficiency in Neuroglia: New Progress in the Pathogenesis of Rett Syndrome, 2017.

KYLE, S. M.; VASHI, N; JUSTICE, M. J. Rett syndrome: a neurological disorder with metabolic components. **Open biology**, 2018.

LIRA, SILVA, V. A Musicoterapia Vibroacústica no Tratamento da Síndrome de Rett. **Faculdade Metropolitanas Unidas**, 2010.

MAFALDA, L., WISNIEWSKI, M., Avaliação postural na síndrome de Rett: Relato de caso, 2018.

MATIJEVIC, T., KNEZEVIC, J., SLAVICA, M., PAVELIC, J. Rett Syndrome: From the Gene to the Disease, 2008.

MARANO, D., FIORINIELLO, S., D'ESPOSITO, M., DELLA R, F. Transcriptomic and epigenomic landscape in rett syndrome. **Biomolecules**, 2021.

MERCADANTE, M. T.; VAN DER GAAG, R. J.; SCHWARTZMAN, J. S. Transtornos invasivos do desenvolvimento não-autísticos: síndrome de Rett, transtorno desintegrativo da infância e transtornos invasivos do desenvolvimento sem outra especificação. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 28, p. s12-s20, 2006.

MARCHETTO MC, CARROMEU C, ACAB A, YU D, YEO GW, MU Y, et al. A model for neural development and treatment of Rett syndrome using human pluripotent stem cells. **Cell** 2010.

MARTINS, H. Síndrome de Rett: Revisão casuística, 2012.

MNATZAKANIAN G. N., LOHI H., MUNTEANU I., ALFRED S. E., YAMADA T., MACLEOD P. J. M., et al. A previously unidentified MECP2 open reading frame defines a new protein isoform relevant to Rett syndrome, 2004.

NEUL J. L., KAUFMANN W. E., GLAZE D. G., CHRISTODOULOU J, CLARKE A. J., BAHU-BUISSON N., LEONARD H., BAILEY M. E., SCHANEN N. C., ZAPPELLA M., RENIERI A., HUPPKE P., PERCY A. K. RettSearch Consortium. Rett syndrome: revised diagnostic criteria and nomenclature. **Ann Neurol.** 2010.

PAZETO, T., HARA, A., BARROZO A. F., OLIVEIRA. J., KHOURY, L. P., DUARTE, D. B., SCHWARTZMAN, J. S., Síndrome de Rett: Artigo de revisão, 2013.

PEJHAN, S.; RASTEGAR, M. Role of DNA Methyl-CpG-Binding Protein MeCP2 in Rett Syndrome Pathobiology and Mechanism of Disease. **Biomolecules**, 2021.  
PERCY, AK. Progress in Rett Syndrome: from discovery to clinical trials. **Wien Med Wochenschr.** 2016.

REICHWALD K., THIELSEN J., WIEHE T., WEITZEL J., STRATLING W. H., KIOSCHIS P., et al. Comparative sequence analysis of the MECP2-locus in human and mouse reveals new transcribed regions. **Mamm**, 2000.

RETT SYNDROME VARIATION DATABASE. RettBASE, 2014.

ROZENSZTRAUCH, A; SEBZDA, A; ŚMIGIEL, R. Clinical presentation of Rett syndrome in relation to quality of life and family functioning. **Journal of International Medical Research**, 2021.

RUSSO, S.; MARCHI, M., COGLIATI, F.; BONATI, M. T.; PINTAUDI, M., VENESELLI, E.; SALETTI, V.; BALESTRINI, M.; BEN-ZEEV, B. e LARIZZA, L. Novel mutations in the CDKL5 gene, predicted effects and associated phenotypes. **Neurogenetics**, 2009.

SCHWARTZMAN, J. S. Síndrome de Rett. **Brazilian Journal of Psychiatry**, 2003.

SHAHBAZIAN M., YOUNG, YUVA-PAYLOR L., SPENCER C., ANTALFFY B., NOEBELS J., et al. Mice with truncated MeCP2 recapitulate many Rett syndrome features and display hyperacetylation of histone H3. **Neuron**, 2002.

SHARIFI, O., YASUI, D., The Molecular Functions of MeCP2 in Rett Syndrome Pathology, 2021.

SILVA, A., Síndrome de Rett e Atividade Física Adaptada: Uma perspectiva nesta área de intervenção, 2011.

SILVA NLS, PASSOS XS, PERREIRA SLS. Síndrome de Rett: revisão da literatura, 2016.

SPLENDRE A, ROCHA KM, TAKAHASHI VNVO, ZATZ M, PASSOS-BUENO MR. Centro de Estudos do Genoma Humano: Seis Anos de Experiência no Diagnóstico

Molecular da Síndrome de Rett. **Rev Neurocienc**, 2012.

VIANNA, E. Q; Identificação de genes/mecanismos moleculares associados à deficiência intelectual em mulheres a partir de padrões extremos de desvio de inativação do cromossomo X. 2019.

VEERARAGAVAN, S., WAN, Y., CONNOLLY, D. R., HAMILTON, S. M., WARD, C. S., SORIANO, S., et al. Loss of MeCP2 in the rat models regression, impaired sociability and transcriptional deficits of Rett syndrome. **Hum. Mol. Genet.** **25**, 2016.

VEIGA, MARIELZA.; TORALLES, MARIA, B. A expressão neurológica e o diagnóstico genético nas síndromes de Angelman, de Rett e do X-Frágil, 2002.

VIDAL, S.; XIOL, C.; PASCUAL-ALONSO, A.; O'CALLAGHAN, M.; PINEDA, M.; ARMSTRONG, J. Genetic Landscape of Rett Syndrome Spectrum: Improvements and Challenges. **International Journal of Molecular Sciences**, 2019.

# USO DA RADIOFREQUÊNCIA NÃO ABLATIVA NO REJUVENESCIMENTO FACIAL

## USE OF NON-ABLATIVE RADIOFREQUENCY IN FACIAL REJUVENATION

Fernanda Godoi Bueno Sella<sup>1</sup>

Karina de Almeida Gualtieri<sup>2</sup>

143

### RESUMO

Atualmente, o processo fisiológico de envelhecimento cutâneo, associado à exposição solar sem os devidos cuidados, tabagismo, consumo de álcool, estresse e outros fatores correlacionados têm se tornado preocupação entre os indivíduos. Em especial a perspectiva de vida aumentada e os padrões estéticos impostos pela sociedade, bem como as preocupações para prevenir, tratar e retardar o processo do envelhecimento vem aumentando. Diante desse cenário, surgem cada vez mais protocolos de tratamento, técnicas e avanços tecnológicos que possam restabelecer e melhorar a qualidade da pele, como o uso combinado de blends químicos, micropuncturas, intradermoterapias e uso de aparelhos como laser e radiofrequência. Salientando aqui, a radiofrequência como uma técnica não invasiva e indolor, que utiliza correntes elétricas de alta frequência, na qual é gerado calor quando em contato com os tecidos corporais humanos e, com isso, alcançando camadas profundas da derme, estimulando a vasodilatação e a oxigenação do tecido. Técnica que vem ganhando ênfase no mercado estético, pelo fato de seu efeito térmico proporcionar a migração de fibroblastos, tornando mais forte a organização do colágeno, melhorar a forma, a textura e a elasticidade da pele, ou seja, age prevenindo o envelhecimento e flacidez. O presente trabalho traz uma revisão bibliográfica, de caráter descritivo, fundamentado nas bases de dados, buscando como descritores principais os termos envelhecimento, radiofrequência e rejuvenescimento facial, fim de traçar um delineamento voltado ao objetivo deste artigo, abordando fatores envolvidos com o envelhecimento facial, bem como o papel da radiofrequência como uma das formas utilizadas para a prevenção e tratamento. Visto que, a radiofrequência tem se tornado uma boa alternativa no tratamento de linhas de expressão, melhorar elasticidade e rugas, além de suas vantagens como um método de mínimos efeitos colaterais ou riscos aos pacientes tratados. Ademais, mostra resultados satisfatórios, mas, é importante lembrar e ressaltar as contra indicações para a realização das sessões, já que é uma técnica que estimula calor junto ao tecido.

**Palavras-chaves:** colágeno; radiofrequência, rejuvenescimento facial.

<sup>1</sup> Graduanda do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil), Londrina/PR, Brasil. E-mail: fernandasella@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Orientadora e Docente Titular do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). Londrina/PR, Brasil. E-mail: karina.gualtieri@unifil.br

## ABSTRACT

Currently the physiological process of skin aging associated with solar exposure without proper care, smoking, alcohol consumption, stress and other related factors have become a concern between individuals. Specially considering the increased life expectancy and the aesthetic standards imposed by society, the concerns for preventing, treating and delaying the aging process have grown. Facing this scenario, an increased number of treatment protocols, techniques and technological advances have appeared which might reestablish and increase the skin quality, as some examples: the combined usage of chemical blends, micropuncture, intradermotherapy and usage of laser and radiofrequency machines. Radiofrequency, as pointed out here, is a non-invasive and painless technique that uses high-frequency electric currents in which heat is generated when in contact with human body tissue and therefore reaches deep layers of the skin, while stimulating vasodilation and tissue oxygenation. Technique which has been highlighted on the aesthetic market for its thermal effect providing a migration of the fibroblasts, making the collagen organization stronger, improving form, texture and elasticity of the skin, so in other words, prevents aging and flaccidity. This research brings a bibliographical and descriptive review, having as its main descriptors the terms aging, radiofrequency and facial rejuvenation, aiming to detail such terms as the objective of this article, addressing the factors involved with facial aging, as well as the role of radiofrequency as one of the utilized forms of prevention and treatment. considering radiofrequency has turned into a good alternative in treating expression lines and wrinkles while improving elasticity besides its advantages as a method with minimal side effects and risks to the patient. Furthermore, it shows satisfactory results, but it's important to point out the contraindications for performing the radiofrequency sessions, since it's a technique which stimulates heat along with the tissue.

**Keywords:** collagen; radiofrequency, facial rejuvenation.

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente a preocupação com a saúde estética, trazendo uma aparência jovem e saudável torna ampla a busca por tratamentos estéticos que possam prevenir e/ou tratar sinais de envelhecimento, entre eles, destacando a flacidez e formação das linhas de expressão (FACCHINETTI; SOUZA; SANTOS, 2017).

O aparecimento das linhas de expressão, de flacidez facial entre outros sinais relacionados ao envelhecimento cutâneo depende de fatores intrínsecos, como por exemplo, a idade e a genética e, extrínsecos relacionados com o frio, exposição solar, má alimentação, tabagismo e o estresse, como fatores mais evidentes para o envelhecimento (FACCHINETTI et al., 2017). Ademais, entende-se que a associação dos fatores intrínsecos e extrínsecos acelera o envelhecimento cutâneo, tornando a

pele mais delgada em alguns locais, enrugada, seca e ocasionalmente escamosa. paralelo a isso ainda ocorrem alterações da derme, as fibras colágenas tornam-se mais grossas, as fibras elásticas perdem parte de sua elasticidade e há um declínio gradual da gordura depositada no tecido subcutâneo, propiciando assim o aparecimento da flacidez que, neste caso, envolve a flacidez da pele e a hipotonia muscular com a presença de linhas de expressão (NIENKOETTER; HELLMANN; GONÇALVES, 2012).

No curso histórico da humanidade, têm sido observado uma preocupação expansiva com a aparência física, promovendo a realização de quaisquer tratamentos que se considerem necessários, sejam estes invasivos ou não, a fim de preservar ou rejuvenescer a aparência. Ainda, tem-se o crescente aumento da expectativa de vida, bem como, a evolução geral das condições financeiras, resultando na busca constante pela juventude, tanto por mulheres como por homens, havendo grande influência midiática na busca de padrões estéticos, rejuvenescimento e melhora da qualidade dos tecidos que sustentam a face (AUDINO; SCHMITZ, 2012; BOCK; NORONHA, 2013).

Nesse contexto, há uma fuga dos sinais de envelhecimento facial e corporal, levando em consideração que a pele, aqui, é o órgão de maior destaque, sendo responsável pela demonstração do processo de envelhecimento, um processo fisiológico inevitável. Salientando ainda, que a pele suporta as alterações mais perceptíveis ao longo do tempo, realizando diversas funções, dentre elas, a de proteção contra agentes externos, inferindo cada vez mais a importância de técnicas aplicadas, como a radiofrequência que possam minimizar esses efeitos (KEDE; SABATOVICH, 2004; SOARES et al., 2012; NIENKOETTER et al., 2012).

Pode-se dizer, também, que o envelhecimento se caracteriza como o conjunto de alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas inevitáveis que se sucedem no organismo (FACCHINETTI; SOUZA; SANTOS, 2017).

A radiofrequência é uma corrente de alta frequência que atinge a pele gerando calor controlado, na forma não ablativa. De acordo com os protocolos iniciais prescritos, promove calor por conversão entre 30 KHz e 300 MHz, sendo a frequência mais utilizada entre 0,5 a 2,5 MHz e a manutenção da temperatura em torno de 40°C durante o período de aplicação (LOFEU et al., 2015).

Este tema foi escolhido a fim de entender a importância da radiofrequência facial e analisar os seus efeitos fisiológicos já que, é uma técnica eficaz que auxilia no retardo do envelhecimento com resultados comprovados cientificamente, a grande demanda dos pacientes que buscam o rejuvenescimento facial sem ter que ser submetido por procedimentos mínimamente invasivos.

Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo realizar uma revisão integrativa através da leitura de artigos nacionais e internacionais que avaliem o efeito da radiofrequência no tratamento e prevenção de flacidez cutânea relacionada ao processo de envelhecimento.

## **2 METODOLOGIA**

Para elaboração desse estudo de revisão, de cunho narrativo, foram utilizados artigos científicos pesquisados nas bases de dados Science Direct, PubMed e ACS Publications. Durante a busca foram empregados os seguintes descritores: envelhecimento cutâneo, radiofrequência, rejuvenescimento entre outros termos correlatos. A busca foi realizada durante o período de agosto de 2021 a julho de 2022. Enquanto a seleção do material que compôs esse trabalho, incluiu os artigos que apresentaram a temática mencionada, e que foram publicados nos últimos 15 anos, no formato de artigo original. Os critérios de exclusão foram: artigos duplicados, teses, dissertações, monografias e resumos, que não estivessem disponíveis na íntegra. Durante a etapa de triagem dos estudos, títulos e resumos foram lidos para verificar a relevância do conteúdo e a compatibilidade com os objetivos da presente pesquisa.

## **3 FISIOPATOLOGIA DO ENVELHECIMENTO, DISFUNÇÕES ESTÉTICAS E TRATAMENTO**

Inicialmente, é imprescindível destacar que, existem duas maiores classificações possíveis ao envelhecimento: envelhecimento intrínseco e envelhecimento extrínseco. O extrínseco se dá em razão da exposição aos diversos fatores ambientais, ao passo que o intrínseco ocorre pelo próprio envelhecimento cronológico e natural humano. Nos dois, o fator biológico que mais se manifesta é o atraso da síntese de proteínas, por conta do desequilíbrio entre sua formação e

degradação. O sistema imune, em idade mais avançada, já não reconhece as células como próprias e passa a aniquilá-las (DRAELOS, 2012; SILVA et al., 2016).

O envelhecimento intrínseco pode ser denominado, ainda, de cronológico ou verdadeiro, se caracterizando como já aguardado e inevitável. As variações do referido envelhecimento têm relação direta com a longevidade, sendo influenciada por fatores genéticos e mudanças hormonais, suscitando definhamento da pele, flacidez, rugas, ressecamento, diminuição da espessura da pele, entre outros. No que diz respeito ao envelhecimento extrínseco, a relação direta está relacionada ao foto envelhecimento, podendo assim ser denominado, visto que a longo prazo são notadas diversas alterações na pele, alterações essas que se sobrepõem ao próprio envelhecimento intrínseco (KEDE; SABATOVICH, 2004; SOARES et al., 2012; NIENKOETTER et al., 2012).

Os sinais do envelhecimento cutâneo ocorrem comumente sobre regiões do tegumento que permanecem expostas às intempéries, tal qual é o caso do pescoço, colo e rosto, regiões que vão ficando enrugadas, hiperpigmentadas e flácidas, acentuando os sulcos naturais dessas regiões. Ainda, o excesso de mímicas ou expressões, em conjunto, acarreta a deterioração das fibras elásticas, o que suscita em marcas de expressão (GUIRRO; GUIRRO, 2004).

Nesse sentido, a luz solar se imprime como o desencadeador primário do envelhecimento prematuro, independentemente da cor da pele, elasticidade cutânea e formação de rugas (RODRIGUES, 2012).

O envelhecimento cutâneo, conforme se denota, é originário de múltiplas ocorrências refletindo em modificação do nível dérmico em decorrência da junção de todos esses fatores, na qual suscitam-se perdas de colágeno, elastina, fibras reticulares entre outros, que são responsáveis pela sustentação, elasticidade e firmeza da pele (VIEIRA, 2007).

As rugas podem ser definidas como superficiais quando se observa que, sendo a pele esticada, não há alterações estáticas ou profundas, mesmo havendo estiramento da pele (KEDE; SABATOVICH, 2009). De acordo com os ensinamentos de Guirro e Guirro (2010), as rugas estáticas surgem a partir de movimentos repetitivos, que acabam surgindo mesmo sem movimentos, ainda, podendo ser definidas como as que aparecem a partir da fadiga das estruturas da pele. Em relação

às dinâmicas, são observadas enquanto linhas de expressão ocasionadas pela constância de movimentos recorrentes e mímica facial. Por fim, as rugas gravitacionais aparecem a partir da flacidez natural da pele e do afrouxamento das estruturas da face.

Ainda, apesar das classificações das rugas, Richard Glogau desenvolveu uma classificação do fotoenvelhecimento que pode ser do tipo I ao tipo IV (SILVA et al., 2004, PINHEIRO, 2016). De acordo com essa escala, as rugas do tipo I são ínfimas e primárias. É possível se observar a presença de uma leve alteração na pigmentação, ausência de queratoses ou lentigos senis, comumente são observadas em indivíduos entre as faixas etárias de vinte a trinta anos de idade.

Rugas do tipo II, indicam epiderme lisa quando não há movimentos, todavia, durante a movimentação é possível observar a presença de lentigos senis e telangectasias iniciais, porém não possui queratoses visíveis. Geralmente, estão presentes nos indivíduos entre a faixa etária dos trinta aos quarenta anos, que podem ser mascaradas por meio de maquiagem leve. Já nas rugas do tipo III são observadas mesmo sem expressão ou movimentação, havendo também a presença de lentigos senis, telangectasias e queratoses solares, geralmente observadas em indivíduos além dos 50 anos de idade (SOUZA, 2007).

Com o passar do tempo, a pele sofre progressivas modificações morfológicas e fisiológicas, ocasionadas por diversos fatores que influenciam o organismo. Fatores como exposição à radiação solar, poluentes atmosféricos, hábitos e estilo de vida como tabagismo, consumo de bebidas alcoólicas e fatores intrínsecos de natureza genética, bioquímica e celular refletem nas alterações celulares e conseqüentemente que mantêm a organização do tegumento (FERRAZ et al., 2021).

Coletivamente, estes fatores contribuem para o envelhecimento celular e do organismo, incluindo o envelhecimento da pele e que, também desempenham um importante papel no processo de envelhecimento prematuro e trazem as disfunções estéticas que hoje despertam grande procura por profissionais qualificados que possam minimizar tais efeitos e tratar estas alterações (MENDES, 2020; TEIXEIRA et al., 2018).

Clinicamente, a pele torna-se mais flácida, mais espessa, hiperpigmentada, e nas áreas mais expostas à radiação solar, como a face e as mãos, observa-se o

aparecimento precoce de rugas e outras alterações cutâneas, como melasmas, melanoses e eventualmente até mais graves como o carcinoma de pele (TASSINARY; SINIGAGLIA; SINIGAGLIA, 2019).

Neste cenário, destaca-se a prevenção que pode ser inicialmente efetuada através de uma rotina *skincare* regular, incluindo o uso de protetor solar, cremes ou soluções como sérum que contenham substâncias, tais como antioxidantes, ácido retinóico, entre outros, que minimizem os efeitos do envelhecimento. Existem, porém, outras estratégias como tratamentos invasivos e não ablativos que serão também analisados no âmbito do presente trabalho.

### 3.1 Morfologia e Fisiologia da Pele

A pele se constitui como órgão de multifuncional, caracterizando-se como o contato inicial que corpo possui com o ambiente externo, vez que o reveste integralmente, compondo a barreira defensiva primária adversa contra microrganismos, sendo o meio primário de exposição anterior a diversos agentes infecciosos. Nesse sentido, representa uma barreira que resguarda o corpo contra diversas intempéries biológicas e químicas, raios UV, fatores externos, tal qual poluições diversas, agindo como linha de combate contra as ações destrutivas que as referidas nocividades podem causar (BERNARDO; SANTOS; SILVA, 2019).

Sob o aspecto de funcionalidade, a pele é responsável pela regulação da temperatura do corpo, de modo a evitar perdas hídricas, bem como, controlar a temperatura e umidade superficial. Ainda, faz parte do metabolismo e da conservação das vitaminas e dos lipídios, auxiliando, também, na regulação dos fluxos linfático e sanguíneo (GUIRRO; GUIRRO, 2010).

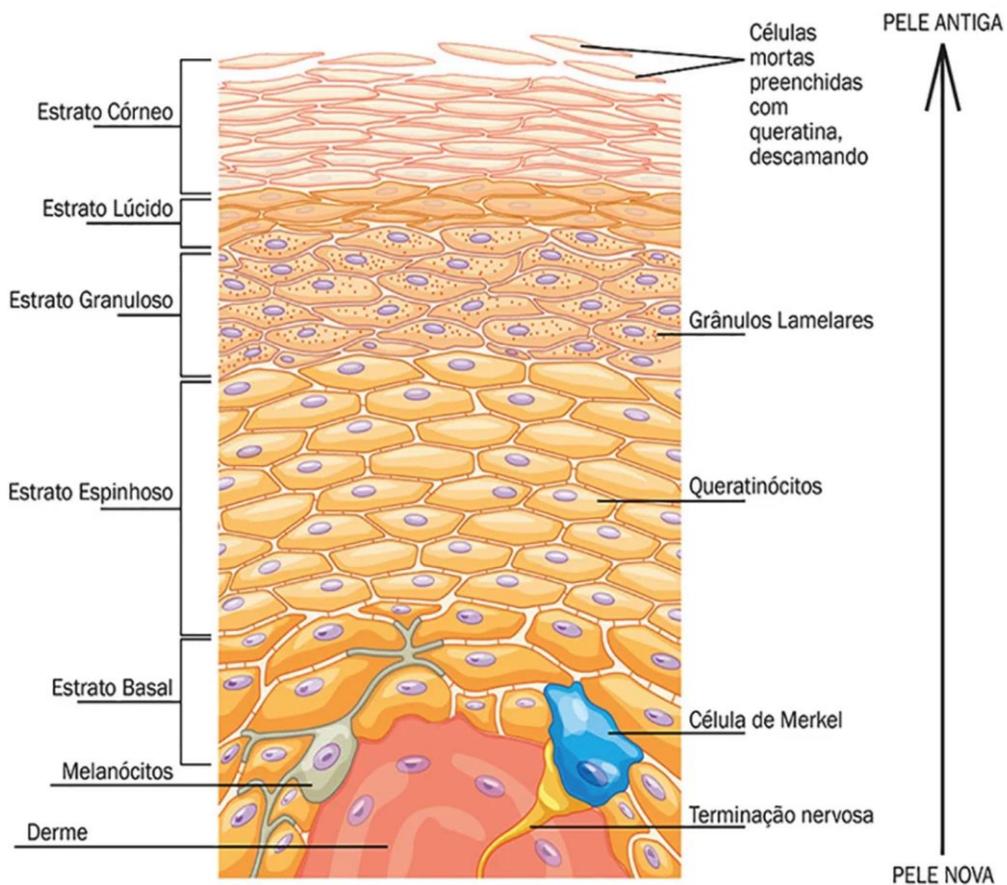
Inicialmente, a derme constitui a camada mais grossa do tecido tegumentar, camada na qual são encontrados os vasos sanguíneos, o colágeno, as fibras elásticas e os nervos, todos adjuntos da epiderme. Ainda, possui uma subdivisão em camada papilar, superficial e onde encontram-se os plexos vasculares, possuindo, parcialmente, a função de nutrição da epiderme por meio da osmose, bem como, a camada reticular profunda, posicionada inferiormente a derme papilar, sendo suas fibras de colágeno profundamente entrelaçadas. Referida camada se atrela ao tecido subcutâneo por meio de uma rede entrelaçada irregular de tecido conjuntivo fibroso

(TASSINARY, 2019).

A tela subcutânea, ou hipoderme, não compõe parte da pele, mas verifica-se indispensável para a união entre os tecidos subjacentes e a derme. É constituída pelo tecido conjuntivo que varia do tipo frouxo associada à grande quantidade de tecido adiposo unilocular (TASSINARY, 2019).

A epiderme possui sua divisão organizada em cinco camadas, a espinhosa, lúcida, granulosa, germinativa – a camada com maior profundidade, limítrofe com a derme - e córnea, sendo a córnea formada por células escamosas e queratinizadas que garantem a proteção contra traumas físicos e químicos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

**Figura 1 - Camadas da Pele.**



Fonte: <https://escolaeducacao.com.br/camadas-da-pele/>

### 3.2 Fisiopatologia do Envelhecimento

Diante desse cenário, são estabelecidos dois tipos de envelhecimento: o

intrínseco e o extrínseco. Enquanto, o envelhecimento extrínseco se dá em razão da exposição aos diversos fatores ambientais, o intrínseco decorre do próprio envelhecimento cronológico e natural humano. Em ambos, o fator biológico que mais se manifesta é o atraso da síntese de proteínas, por conta do desequilíbrio entre sua formação e degradação. O sistema imune, em idade mais avançada, já não reconhece as células como próprias e passa a aniquilá-las (DRAELOS, 2012; SILVA et al., 2016).

O envelhecimento intrínseco pode ser denominado, ainda, de cronológico ou verdadeiro, já que se caracteriza e concretiza como um processo fisiológico normal. As variações do referido envelhecimento conectam-se de forma direta ao prazo de vida do ser humano, sendo por fatores genéticos e mudanças hormonais, suscitando definhamento da pele, flacidez, rugas, ressecamento, diminuição da espessura da pele, entre outros. No que diz respeito ao extrínseco, há associação direta ao fotoenvelhecimento, podendo assim ser denominado, visto que a longo prazo são notadas diversas alterações no tecido da pele, alterações essas que se sobrepõem ao próprio envelhecimento intrínseco. Importante o destaque de que o referido processo se dá tanto em razão da exposição solar e a atuação dos raios ultravioleta, quanto por maus hábitos, sejam eles alimentares ou diversos, tais como fumar, beber ou utilizar drogas (KEDE; SABATOVICH, 2004; SOARES et al., 2012, NIENKOETTER et al., 2012).

Há também os fatores hormonais, que influenciam na pele de diversas formas, tal como a diminuição da produção sebácea, devido ao comprometimento do tecido cutâneo; stress oxidativo que, não somente, modifica a renovação celular, devido aos danos no DNA, propiciando o surgimento de doenças inflamatórias na pele (SBD, 2014).

Os sinais do envelhecimento cutâneo ocorrem comumente sobre regiões do tegumento que permanecem expostas às intempéries, tal qual é o caso do pescoço, colo e rosto, regiões que vão desenvolvendo rugas estática, áreas de hiperpigmentação e flacidez, piorando os sulcos naturais dessas regiões. Ainda, pessoas mais expressivas, tendem a gerar, em conjunto, maior deterioração das fibras elásticas, o que suscita em marcas de expressão (GUIRRO; GUIRRO, 2004).

Ainda não é sabido a exatidão das causas responsáveis pelas modificações funcionais e anatômicas, bem como, como funciona o mecanismo biológico responsável por tais alterações, mesmo após diversos estudos voltados para o

envelhecimento. Existem diversas teorias que objetivam determinar uma causa exata para tanto, quais sejam: a da multiplicação celular, na qual as células possuem capacidade intrínseca de se multiplicar; a teoria do relógio biológico, na qual o próprio organismo tem um relógio que determina o início do envelhecimento; a das reações cruzadas de macromoléculas, que se imprime no princípio ortomolecular, ou seja, na ocorrência de reações cruzadas, ocorre uma perda de características das moléculas, o que ocasiona em alterações no tecido tegumentar (MOTA et al., 2004; FRIES; PEREIRA, 2011).

### **3.3 Tratamentos associados ao Envelhecimento**

Com o intuito de buscar rejuvenescimento ou retardar o processo de envelhecimento têm sido observada uma crescente busca por protocolos e tratamentos que ofereçam rejuvenescimento facial. A quantidade de opções a fim de alcançar o referido objeto é extensa, sendo possível destacar, dentre eles, o uso da toxina botulínica, eletrolifting, fototerapia com utilização de laser, ionização, LEDs, luz pulsada, a radiofrequência, utilização de ozônio, por meio de ozonioterapia, dentre outros. Aliado a cada procedimento, também são destacados o uso de dermocosméticos e fármacos antioxidantes ou compostos que promovam reorganização tecidual, estimulem a renovação e proliferação de células, colágenos, fibras elásticas e reticulares entre muitos outros efeitos.

Um dos compostos mais aplicados e utilizados é representado pela vitamina C, ou ácido ascórbico, uma vitamina hidrossolúvel. O ácido ascórbico, dentre suas várias funções, aumenta a firmeza e elasticidade através da formação das fibras colágenas existentes em praticamente todos os tecidos do corpo humano, principalmente na derme. Tem efeito clareador e regenera a vitamina E, protege a pele da ação dos raios ultravioleta neutralizando os radicais livres, preservando a estrutura dos fibroblastos e atuando intensamente no tratamento de inflamações, pois impede a produção do ácido araquidônico que é uma substância pró-inflamatória causadora das rugas, além de reduzir a síntese de melanina através da inibição da tirosinase (AZULAY et al., 2003; OLIVEIRA, 2008; RIBEIRO, 2006).

Para amenizar o processo de envelhecimento têm sido empregados muitos tratamentos para o rejuvenescimento facial e dentre eles podem ser relacionados uso

de equipamentos de alta tecnologia, como o ultraformer, o laser, assim como a carboxiterapia e, a intradermoterapia que já envolve técnicas invasivas. Destacando aqui, a radiofrequência por sua eficiência em estimular a formação de colágeno e melhorar a aparência da pele (NOVAIS; SOUZA, 2020).

Diversos estudos descrevem a utilização de blends químicos, ativos como vitamina c, ácido hialurônico e colágeno, com o intuito de promover o rejuvenescimento da pele, associados à peelings, técnicas minimamente invasivas como microagulhamento e intradermoterapias, técnica de eletrolifting, com a utilização da corrente galvânica, promovendo uma lesão no tecido, para promoção da suavização de rugas e linhas de expressão, cicatrizes e estrias, e ainda auxiliar na indução de colágeno (FONSECA; GUERRA; SOBRINHO, 2020; ZACHARY, 2016).

Diante dos estudos acerca dos pilares do envelhecimento facial, os procedimentos minimamente invasivos revolucionaram o tratamento para o rejuvenescimento facial: com o uso dos preenchedores dérmicos, não apenas para tratar das linhas finas e rugas, mas também para a correção da perda de volume e a melhora da face envelhecida, combinando mais recentemente, os bioestimuladores que ganham cada vez mais popularidade no mercado dermatológico. Este último tem como principal objetivo melhorar o aspecto cutâneo, agindo de forma ativa nas camadas mais profundas da pele, além de também devolver o volume facial perdido, através do estímulo à formação de novo colágeno dérmico (LIMA; SOARES, 2020).

### 3.3.1 Radiofrequência

Levando em consideração a crescente preocupação com a aparência em relação à flacidez, o aparecimento das linhas de expressão e a obtenção de uma longevidade de forma saudável, é possível observar a busca de indivíduos pela melhora da apresentação facial. É necessário ter em conta que, as ações de fatores externos, como frio, sol e estresse, somadas ao decurso do tempo, propiciam o aparecimento de sinais do envelhecimento mais evidentes. Esses são sinais que não necessariamente indicam a idade biológica do indivíduo, no entanto em alguns casos mostram o processo de envelhecimento acelerado, aumentando a preocupação com os cuidados estéticos (SILVA; HANSEN, 2012).

Frente ao contexto apresentado e buscando diminuir os impactos do

envelhecimento, amenizar seu precoce e acelerado processo, surge a radiofrequência, que se trata de um procedimento estético não invasivo e indolor, que tem por finalidade estimular a produção de colágeno e proporcionar elasticidade a pele, pelo estímulo de uma temperatura elevada, que através de um choque térmico do inglês *Heat Shock Protein (HSP)*, estabilizam a fibra de colágeno, estimulando o rejuvenescimento (SILVA; HANSEN, 2012).

Dutra e Mejia (2012) descreveram que na radiofrequência ocorre intensa agitação molecular elevando a temperatura dos tecidos e que esta relação é diretamente proporcional, assim, quanto maior a concentração de água e eletrólitos presentes no tecido, maior será a temperatura alcançada e melhores os resultados. Assim, o ideal é aumentar a temperatura tecidual alcançando no local em torno de 40°C a 43°C, e desencadear sequências de reações fisiológicas: aquecimento do tecido induzindo à vasodilatação no local e o estímulo à formação de novo colágeno (FONSECA; ALVES; HASSE, 2018).

Radiofrequência é uma energia que ao interagir com o tecido gera calor e todos os seus resultados são baseados nesse princípio. O calor pode ser estimulado nas moléculas através de uma carga de energia no campo eletromagnético, sofrem contrações e expansões, esses movimentos consecutivos estimulam o calor na região e acelerando a deslocação dos elétrons na região. Segundo Borges (2016), a manopla utilizada na radiofrequência emite a energia através dos eletrodos que estão na ponteira. Fato que se associa à apresentação dos equipamentos, por exemplo, em 2 eletrodos ativos na ponteira - bipolar, ou, monopolar, quando há somente um ativo na ponteira; e a forma dispersiva, também designada passiva, quando é colocado em regiões planas do corpo próximo a área-alvo evitando proeminências ósseas.

Assim, a radiofrequência promove um aumento na temperatura, ocasionando a oxigenação local e melhora do metabolismo tecidual, trazendo a firmeza com desenvolvimento de colágeno e elastina (BRITO; KAMIZATO, 2014).

A radiofrequência ablativa fracionada é uma técnica nova que atua com um complexo de fracionamento energético randômico, parecido com o laser CO2 fracionado só que utiliza uma fonte energética diferente, além dele ter um tempo para aguardar o relaxamento térmico do tecido (TIERNEY, 2012; KORL, 2013). As tecnologias têm se modernizado cada vez mais, sistemas a laser que foram avançando, como os fracionados ablativos e não ablativos, fazendo com que

obtenham bons resultados diminuindo efeitos colaterais. De acordo com Zachary (2016), o tratamento com laser não ablativo é capaz de minimizar a aparência de rugas, cicatrizes e manchas, produzindo calor na derme e, a técnica fracionada possibilita a regeneração com mais eficiência do que a não fracionada.

A radiofrequência consiste numa emissão de correntes elétricas de alta frequência, entre 30KHz a 300KHz. Tal emissão forma um campo eletromagnético, campo esse que gera calor no momento em que entra em contato com os tecidos corporais humanos. Assim, o tratamento busca alcançar as camadas da pele penetrando a epiderme em nível celular, bem como derme e tecido subcutâneo, podendo estender-se até as células musculares, provoca contração das fibras colágenas e leva à formação de novas fibras, assim ocasionando a reorganização das fibras e um remodelamento tecidual (CAVALERI et al., 2018).

Vieira (2016), enfatiza que a radiofrequência é de grande utilidade atualmente já que:

[...] demonstra grande utilidade clínica na medicina estética devido à indução de efeitos biológicos, tais como: redução da produção dos radicais livres, vasodilatação, aumento da circulação arterial, da drenagem venosa, da reabsorção de catabólitos e da oxigenação, diminuição de edemas nas áreas com processo inflamatórios referentes a elevação da temperatura devido ao uso da corrente elétrica de alta frequência controlada. O efeito térmico da radiofrequência proporciona a migração de fibroblastos, tornando mais forte a organização do colágeno, melhorando dessa forma a textura da pele.

Os benefícios da utilização da radiofrequência no rejuvenescimento envolvem minimizar os sinais de envelhecimento devido a vasodilatação local, aumento da circulação sanguínea, maior aporte de nutrientes, maior atividade metabólica e enzimática, diminuição da viscosidade, alteração do tecido colagenoso e estimulação nervosa (SILVA; HANSEN, 2012).

Assim, tem-se a diminuição de rugas, melhora na aparência da pele, reorganização das fibras de colágeno e elastina, aprimoramento da microcirculação, enriquecimento da hidratação da pele, melhora da oxigenação, possui efeito de aceleração quanto a eliminação de toxinas, combate a flacidez, deste modo, dando mais firmeza à pele (CAVALERI et al., 2018). Trazendo a radiofrequência como um procedimento provido de diversos benefícios.

Abordando os tipos de radiofrequência que são mais utilizados, são classificados em: resistiva e capacitiva. Neste caso, é considerado, o eletrodo capacitivo ou resistivo, cuja função básica é gerar e armazenar energia, quando aplicado em contato direto com a pele, faz com que a energia seja liberada promovendo a elevação da temperatura (VIEIRA, 2019).

Vieira (2019) descreve a resistiva, como sendo de fora para dentro por meio do atrito da pele com o eletrodo, na qual a haste metálica que é por onde ocorre a corrente elétrica, se desloca de um eletrodo para outro induzindo o campo magnético a interagir com as moléculas da pele e a aumentar a temperatura. Já na capacitiva, ocorre o inverso, de dentro para fora, com o eletrodo encapado, não é possível visualizar a haste metálica e, os estímulos para gerar calor ocorrem por ondas curtas.

A emissão da corrente elétrica é feita por uma manopla que pode ser monopolar, bipolar, tripolar e multipolar (três eletrodos ou mais). Considerando que a multipolar possui mais eletrodos e atua em um campo maior sendo assim, é menos indicada para atuação em algumas regiões da face. Para Silva, Pinto e Bacelar (2018,) a utilização da manopla deve ser escolhida conforme avaliação da região de tratamento.

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Observa-se que entre os vários tratamentos hoje praticados, a relevância da radiofrequência é aplicada ao seu protocolo não invasivo, pontuando entre suas vantagens a facilidade do tratamento, sessões práticas, rápidas e pontuais junto às áreas a serem tratadas trazendo bem-estar ao paciente. Ademais, não há necessidade de interrupção durante seu tratamento de afastar-se de atividades rotineiras. Sua ação térmica estimula a produção de colágeno nas camadas mais profundas da pele, provocando o estiramento do tecido cutâneo, produzindo um novo colágeno e assim, minimizando os sinais do envelhecimento.

Os benefícios do tratamento podem ser notados a partir da primeira sessão, devido ao seu efeito lifting imediato, mas salvo as condições da pele, idade cronológica dos indivíduos tratados e até mesmo associação a outros protocolos. Após dez sessões, os resultados são potencializados, sendo alcançada uma melhora

da densidade de colágeno e redução da flacidez cutânea.

Assim, recomenda-se o uso da radiofrequência em tratamentos estéticos faciais e corporais, buscando a melhora da flacidez cutânea, mas sugere-se que novas pesquisas sejam realizadas a fim de aumentar o conhecimento acerca da técnica e seus efeitos cutâneos.

## REFERÊNCIAS

AUDINO, Maira C.F.; SCHMITZ, Andréia. **Cirurgia plástica e envelhecimento**. RBCEH, Passo Fundo, v. 9, Supl. 1, p. 21-26, 2012.

BERNARDO, A.F.C.; SANTOS, K.; SILVA, D.P. Pele: alterações anatômicas e fisiológicas do nascimento à maturidade. **Revista Saúde em Foco**, edição nº 11, 2019.

BORGES, F. dos S.; SCORZA, F. A. **Terapêutica em estética: conceitos e técnicas**. 1. Ed. São Paulo: Phorte, 2016.

CAVALERI, T., SILVA, J. S.da., DIAS, C., ALMEIDA, A. A. de., PEREIRA, V. K., & BUAVA., R. C. (n.d.). “**BENEFÍCIOS DA RADIOFREQUÊNCIA NA ESTÉTICA**”. Disponível em: <[https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2018/06/032\\_beneficios\\_radiofrequencia.pdf](https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2018/06/032_beneficios_radiofrequencia.pdf)>. Acesso em: 9 de junho de 2021.

DRAELOS, Z. D. **Dermatologia cosmética: produtos e procedimentos** / [editado por] Zoe Diana Draelos; [tradução de Eduardo Schimith, Marli Aico Ataka Uchida; revisão técnica de Vancinir Bedin]. – São Paulo: Santos, 2012.

DUARTE, A. B.; MEJIA, D. P. **A utilização da Radiofrequência como técnica de tratamento da flacidez corporal**. Disponível em: <[https://portalbiocursos.com.br/ohs/data/docs/19/38\\_-\\_A\\_utilizaYYo\\_da\\_radiofrequYncia\\_no\\_tratamento\\_da\\_flacidez\\_facial.pdf](https://portalbiocursos.com.br/ohs/data/docs/19/38_-_A_utilizaYYo_da_radiofrequYncia_no_tratamento_da_flacidez_facial.pdf)>. Acesso em: 10 de junho. 2021.

FACCHINETTI, J. B., DE SOUZA, J. S., & SANTOS, K. T. P. (2017). **Radiofrequência no Rejuvenescimento Facial**. *ID on Line REVISTA DE PSICOLOGIA*, 11(38), 336–348.

FONSECA, E., Alves, J., & HASSE R. (n.d.). **O uso da radiofrequência no tratamento de rejuvenescimento facial**. *Revista Estética em Movimento*, 1. Disponível em: <<http://revista.fumec.br/index.php/esteticaemmovimento/article/view/6489>>. Acesso em: 10 de junho de 2021.

FONSECA A. F. S., GUERRA M. N. A., SOBRINHO H. M. R., Uso de cosmeceuticos no rejuvenescimento facial. **Revista Educação em Saúde**: 8 (1): 219-233. 2020.

GUIRRO, E.; GUIRRO, R. **Fisioterapia Dermato-Funcional: Fundamentos, Recursos e Patologias**. 3 ed. Barueri: Manole, 2010.

JUNQUEIRA, L.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

KEDE, M. P. V.; SABATOVICH, O. **Dermatologia Estética**. São Paulo: Atheneu, 2004.

LIMA, N.B.; SOARES, Utilização dos bioestimuladores de colágeno na harmonização orofacial. **Clin. Lab. Res. Den.** 1-18, 2020.

MACIEL, D.; OLIVEIRA, G. **Prevenção do envelhecimento cutâneo e atenuação de linhas de expressão pelo aumento da síntese de colágeno**. V Congresso Multiprofissional em Saúde- Unifil, 2011.

MENDES, J. Envelhecimento(s), qualidade de vida e bem-estar. Psicologia e investigação. In A Psicologia em suas Diversas Áreas de Atuação 3, Ponta Delgada, Portugal, 132-144, 2020.

MOTA, M. Paula; FIGUEIREDO, Pedro A.; DUARTE, José A. **Teorias Biológicas do Envelhecimento**. Revista Portuguesa de Ciências do Desporto, 2004, vol. 4, nº1 [81-110].

NOVAIS, M.J.A.; SOUZA, É.P. Utilização de Tratamentos Estéticos no Retardo do Envelhecimento Cutâneo: Revisão Integrativa. **Id on Line Rev. Mult. Psic.** v.14, n. 53, p. 950-961, 2020.

PRENTICE, William E.; UNDERWOOD, Frank; QUILLEN, William S. **Modalidades terapêuticas para fisioterapeutas**. 4.ed. ed. Porto Alegre : AMGH, 2014. 599 . p.

RODRIGUES, Mecciene M. **Dermatologia: do nascer ao envelhecer** – 1.ed. – Rio de Janeiro: MeedBook, 2012. 448p.

ROTTA, O. **Guia de dermatologia: clínica, cirúrgica e cosmiátrica**. São Paulo: Manole, 2008.

Santos AS, Oliveria FFSS, Name KPO, Caldas EC. **Radiofrequência como coadjuvante no processo de rejuvenescimento facial**. ReBIS [Internet]. 2020 [cited 2020 Out 29];2(3):55-9. Available from: <http://revistarebis.rebis.com.br/index.php/rebis/article/view/109/101>.

SILVA, M. V. R. da., HANSEN, D., & MEDINA, T. (n.d.). **RADIOFREQUÊNCIA NO REJUVENESCIMENTO FACIAL**. Disponível em: <<https://home.unicruz.edu.br/seminario/downloads/anais/ccs/radiofrequencia%20no%20rejuvenescimento%20facial.pdf>>. Acesso em: 10 de junho de 2021.

SILVA, Suimey Alexia; PINTO, Liliane Pereira; BACELAR, Isabela De Assis. **O uso da radiofrequência no rejuvenescimento facial - revisão de literatura**. Revista saúde em foco, São Paulo, v.10, p.570 -571,jul/2018. Disponível

em:<[https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2018/07/067\\_O\\_USO\\_DA\\_RADIOFREQUÊNCIA\\_NO\\_REJUVENESCIMENTO\\_FACIAL.pdf](https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2018/07/067_O_USO_DA_RADIOFREQUÊNCIA_NO_REJUVENESCIMENTO_FACIAL.pdf)>. Acesso em: 13 de junho de 2021.

SILVA, R. M. V. da, FERREIRA, G. M., ALVES, G. de S., LIMA, L. B., VASCONCELLOS, L. S. de, OLIVEIRA, H. G. de, & MEYER, P. F. (2017). **Efeitos da radiofrequência no rejuvenescimento facial: estudo experimental.** *Conscientiae saúde (Impr.)*, 2017194200–2017194200. Acesso em: 13 de agosto de 2021.

TASSINARY, J., SINIGAGLIA, M., SINIGAGLIA, G. **Raciocínio clínico aplicado a estética facial.** Estética experts, 2019.

TEIXEIRA, F. A. B., CARVALHO, J. O., COSTA, N. S., BRITO, N. O. R., RAMOS, P. H. R., & OLIVEIRA, J. M. R. **Avaliação dos fatores extrínsecos e intrínsecos e o processo de aceitação do envelhecimento.** III CIPEEX- Ciência para redução das desigualdades, v.2, 2018.

VIEIRA, G. D. S. K. (2019). **Importância da Radiofrequência em Tratamentos Estéticos: Revisão da Literatura.** Disponível em: <<https://ceafi.edu.br/publicacao/importancia-da-radiofrequencia-em-tratamentosesteticos-revisao-da-literatura/>>. Acesso em 13 de junho de 2021.

WOJAHN, J. L. (2020). **Efeitos da radiofrequência para rejuvenescimento facial.** Disponível em: <<http://repositorio.unisc.br:8080/jspui/handle/11624/2940>>. Acesso em 13 de agosto de 2021.

ZACHARY C. B. Rejuvenescimento facial: revisão do 40º aniversário. **Semin Cutan Med Surg.** 2016.

# DETECÇÃO DE TEMPO PÓS-MORTE EM INVESTIGAÇÃO FORENSE UTILIZANDO COMO PESQUISA MICRORGANISMOS

Eder Ignácio da Silva<sup>1</sup>

Newton Hashimoto<sup>2</sup>

## RESUMO

A microbiologia é um ramo de crescimento vigente e na atualidade adota a posição de um dos apêndices quando o assunto é referente a tanatologia. O estudo em conjunto com técnicas biomoleculares garante uma análise precisa e qualitativa dos microrganismos influentes no processo, servindo de biomarcadores importantes na estipulação do tempo quanto ao processo de putrefação e por vezes na determinação da causa da morte. O trabalho desenvolvido a seguir empregou uma análise descritiva utilizando como base revisão de artigos científicos que dissertam a respeito da microbiologia forense e sua aplicação na rotina profissional de um perito criminal. Foram utilizados artigos publicados em português e inglês, dos anos de 1991 á 2022 nas plataformas Pubmed, Scielo e Google academico, preferencialmente adaptados à língua portuguesa, mantendo a integridade dos autores, buscando desenvolver um trabalho altamente informativo e autoral. Pretendeu-se com esse estudo apresentar o conhecimento do ramo forense a fim de garantir a divulgações dessas informações à comunidade universitária e influenciar positivamente no dia a dia de profissionais da área. Questionando sobre o mecanismo físico invasivo desses agentes biológicos, métodos de cultivo, interações com o ambiente, visto que, as mudanças climáticas abruptas interferem na estimativa de tempo post-mortem, mas que devido os avanços dos estudos voltados as técnicas de identificação refletem em PMI's mais precisas, garantindo uma alta taxa de êxito favorecendo a microbiologia no ramo forense.

**Palavras-chave:** microrganismos; intervalo post-mortem; decomposição; tanatOMICROBIOMA

## ABSTRACT

Microbiology is an ever-growing branch, and nowadays it adopts the position of one of the appendices when the subject is related to thanatology. The study in conjunction with biomolecular techniques ensures an accurate and qualitative analysis of microorganisms influential in the process, serving as important biomarkers in stipulating the time of the putrefaction process and sometimes in determining the cause of death. The following work employed a descriptive analysis based on the review of scientific articles about forensic microbiology and its application in the professional routine of a criminal expert. We used articles published in Portuguese and English, from 1991 to 2022 in the Pubmed, Scielo and Google Scholar platforms, preferably adapted to the Portuguese language, maintaining the integrity of the authors, seeking to develop a highly informative and authorial work. This study aimed to report the knowledge of the forensic branch in order to ensure the dissemination of these

<sup>1</sup> Graduando do curso de biomedicina pela Unifil- Centro Universitário Filadélfia. [eder@edu.unifil.br](mailto:eder@edu.unifil.br)

<sup>2</sup> Professor Orientador. Docente do Curso Superior de Biomedicina no Centro Universitário Filadélfia – Unifil. Email: [newton.hashimoto@unifil.br](mailto:newton.hashimoto@unifil.br)

informations to the university community and positively influence the day to day of professionals in the area. Questioning the physical invasive mechanism of these biological agents, cultivation methods, and interactions with the environment, since abrupt climatic changes interfere with the estimation of post-mortem time, but due to the advances in identification techniques studies reflect in more precise MIPs, ensuring a high success rate favoring microbiology in the forensic branch.

**Key words:** microorganisms; post-mortem interval; decomposition; thanatobiome

## 1 INTRODUÇÃO

A medicina forense conta há muito tempo com provas bioquímicas, antropológicas e histopatológicas para a resolução de várias investigações (ROY et al., 2021). Atualmente, devido à alta taxa da criminalidade, busca-se alternativas que auxiliem na detecção de pistas importantes das cenas criminalísticas, e com o avanço de técnicas moleculares é possível garantir a veracidade dos fatos, implicando diretamente no equilíbrio político-social. A microbiologia atua de maneira assessora e tem destaque amplo em inúmeras áreas de interesse, entre elas, o estudo e detecção da causa e intervalo *post-mortem*, além de compor técnicas com um ótimo custo-benefício (JARVAN, 2016b).

O emprego da Tanatologia (ciência que estuda os mecanismos e aspectos forense da morte) é pertinente na identificação dos fatores e tempo de *post-mortem*, e o estudo do microbioma *post-mortem*, que se utiliza como base bactérias e fungos decompositores como perfil de busca para o esclarecimento dos fatos e consolidação das provas, torna-se uma das peças fundamentais para estabelecer a verdade real de um fato (JARVAN, 2016b).

O processo natural de decomposição *post-mortem* compreende mudanças físicas e bioquímicas que proveem importantes informações sobre o tempo desde o ocorrido, a localização, e a causa da morte. Esse processo se caracteriza pela sucessão microbiana na biomassa morta que contribui significativamente para a modulação da decomposição do cadáver. Compreender este processo implica no entendimento da genética humana, fisiologia, metabolismo, e mais importante, na diversidade ambiental transmitido e compartilhado com a microbiota humana (ROY et al., 2021).

Órgãos internos como o coração, fígado e baço são estéreis em condições humanas saudáveis, porém dentro de 24 horas do período *post-mortem*, ocorre proliferação da microbiota nos órgãos internos. A progressão geral do processo é dependente de diversos fatores externos e internos e desempenha importantes funções na determinação da precisão dos métodos preditivos na ciência forense (ROY et al., 2021).

Portanto, o objetivo deste artigo abrange demonstrar o propósito da thanatomiobioma, através da compreensão da interação direta de tais microrganismos com o cadáver afim de determinar o tempo *post-mortem*, avaliando fatores alternantes como clima e local, utilizando no decorrer da pesquisa materiais bibliográficos e acadêmicos a respeito desses biomarcadores que dispõem relações intimistas com os seres vivos.

## 2 METODOLOGIA

Este estudo sistemático de caráter qualitativo e exploratório será realizado com base em revisão bibliográfica. O levantamento dos materiais será realizado através de sites de bases de dados científicos, como Google Acadêmico, PubMed, SciELO, utilizando como palavras-chaves: Microrganismos; Decomposição Cadavérica; Investigação Forense; Tempo *post-mortem*; serão adotados como critérios de exclusão: artigos não relacionados ao tema e publicações que não estiverem nos idiomas português e inglês. Serão utilizados artigos publicados, preferencialmente, no período de 2000 a 2022.

## 3 DESENVOLVIMENTO

### 3.1 Decomposição cadavérica

Alguns fenômenos ocorrem logo após a morte e se diferenciam em dois grupos: os abióticos e os transformativos (FÁVERO, 1991).

Os abióticos geralmente são fenômenos imediatos, de curta duração e que acontecem antes da proliferação microbiana, sendo caracterizada pela perda das funções vitais como a perda de consciência, os espasmos cadavéricos, a rigidez, o

arrefecimento corporal e a interrupção da circulação e respiração (FÁVERO, 1991).

Os transformativos são aqueles que se iniciam logo após a instalação dos processos de decomposição mediada por microrganismos, ocorrendo modificações da morfologia e estrutura mais pronunciada ao cadáver devido a ação do metabolismo bacteriano associado a autólise celular (FÁVERO, 1991).

O *Algor mortis* é o evento inicial, ocorre de 3 à 4 horas após a morte, em que o resfriamento do cadáver é perceptível, e geralmente é associado ao *Pallor mortis*, quando a pele se torna pálida e perde a elasticidade devido a perda da circulação em capilares (30 minutos após a morte). Segue-se para o *Livor mortis*, o qual ocorre de 2 à 4 horas após a morte, e se destaca pelas manchas em uma área de contato do corpo do cadáver com uma superfície por um longo período de tempo (LIVRARIA CRIMINAL, 2015). Após 4 horas, o corpo entra em um processo de enrijecimento denominado *Rigor mortis*, em que os músculos voluntários e involuntários se tornam estáticos e se petrificam, podendo se perpetuar até 24 horas após o início.

O próximo estágio é a decomposição do corpo. Segundo a LIVRARIA CRIMINAL (2015), a decomposição do corpo humano se classifica em estágios, cada um com sua relevância, que auxiliam no exame físico do cadáver, possibilitando a estimativa de tempo *post-mortem*.

Inicialmente o processo transformativo se subdivide em destrutivos e conservadores (FRANÇA, 2018).

O processo transformativo destrutivo incluem os fenômenos de autólise, putrefação e maceração (FRANÇA, 2018).

O processo transformativo conservador incluem os fenômenos que ocorrem em condições ambientais específicas, identificados através da mumificação, saponificação, calcificação e corificação (FRANÇA, 2018).

Durante a autólise, a deficiência de oxigenação celular faz com que ocorra liberações de enzimas que destroem o citoesqueleto, dando sequência à putrefação. Nessa fase, os microrganismos naturais da porção intestinal e do trato respiratório começam a degradar os restos mortais (BANDARRA; SEQUEIRA, 1999).

Ainda durante a primeira fase de putrefação, nomeado período de coloração, a coloração verde na parede abdominal e fossa ilíaca pode ser notada, devido a fusão de hidrogênio sulfurado com a hemoglobina, formando a sulfometemoglobina, se

estendendo do tronco, crânio e membros (BANDARRA; SEQUEIRA, 1999).

O segundo estágio é o gasoso, onde o gás presente na porção abdominal (sulfídrico) migra para a porção extra corpórea, e quando a formação de gás é muito intensa ocorre aumento da pressão intra-abdominal, podendo, portanto, observar prolapso da porção retal, ocorrendo extravasamento de fezes e outros excrementos (BANDARRA; SEQUEIRA, 1999).

No próximo período, denominado de coliquativo, ocorre após uma semana, os tecidos moles e as vísceras perdem sua morfologia natural devido a decomposição ativa, se tornando uma massa disforme, e o odor pútrido se torna mais evidente (BANDARRA, 1999; BESSA, 2020; LIVRARIA CRIMINAL, 2015).

O quarto e último estágio é a esqueletização, resultando na exposição da dentição e dos ossos, o término deste período pode se perpetuar e concretizar em até 3 anos após a morte, e com o tempo essas estruturas previamente rígidas vão se tornando pouco resistentes e quebradiças (BANDARRA; SEQUEIRA 1999; BESSA, 2020; LIVRARIA CRIMINAL, 2015).

Além da putrefação, alguns fenômenos transformativos específicos ocorrem em casos específicos, por exemplo, a maceração, que é um processo que sucede em gestantes após o 5º mês de gestação, ou em casos de afogamento, onde é possível visualizar o descolamento da pele e a separação do corpo como se fossem um tecido a parte (SOUZA et al., 2018).

**Figura 1 - Cronologia *Post-Mortem***

<i>Cronologia Post-Mortem</i>	
■ Corpo flácido, quente e ausência de livores	menos de 2h
■ Rigidez da nuca e mandíbula e esboço de livores	de 2 a 4h
■ Rigidez dos membros anteriores, nuca, mandíbula e livores relativamente acentuados.	de 4 -6h
■ Rigidez generalizada, manchas de hipostase	de 8 a 36h
■ Início de flacidez e da putrefação (manchas cadavéricas)	24h
■ Flacidez generalizada, putrefação (enfisematosa e início da coliquação)	48h
■ Coliquação manifesta	72h
■ Desaparecimento das partes moles	de 2 a 3 anos
■ Esqueletização completa	mais de 3 anos

Fonte: Bandarra e Sequeira (1999)

### 3.2 Microbioma humano *Post-mortem*

O corpo humano é habitado por aproximadamente 10 a 100 trilhões de células microbianas simbióticas, o que leva a uma proporção de 10 células microbianas para

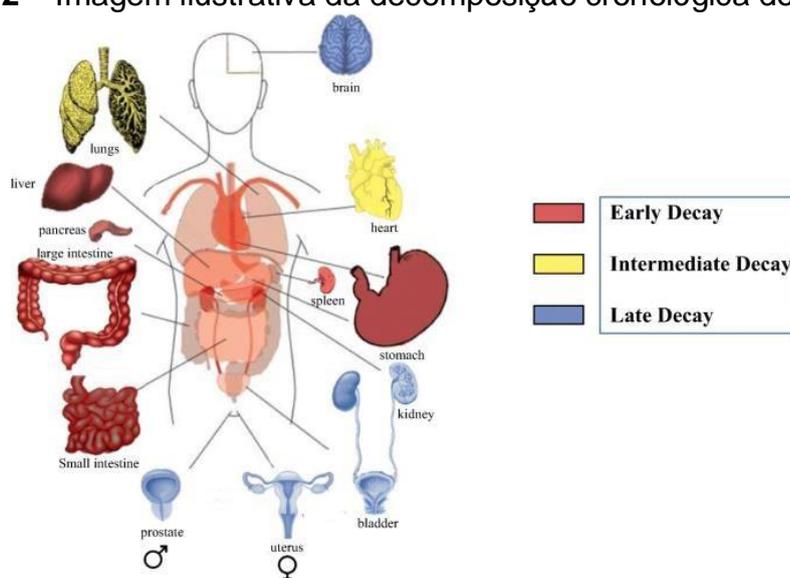
cada célula humana (URSELL et al., 2012).

Essa comunidade de microrganismos que reside no corpo humano é denominado de microbioma, sendo composta por principalmente bactérias e, em menor quantidade, por fungos, protozoários e vírus. Esses microrganismos colonizam as superfícies do corpo que ficam em contato com o meio exterior (MOURÃO; MAGALHÃES; MENDES, 2005).

A colonização se inicia no período neonatal e a sucessão se perpetua ao longo da vida útil. Durante a vida, os microrganismos que colonizam o corpo humano coexistem em um equilíbrio global em condições saudáveis, constituindo o microbioma humano. Existem cinco locais principais de colonização bacteriana no corpo humano: o trato gastrointestinal (representando 29% do número total das células bacterianas na microbiota humana), a cavidade oral (representando 26%), a pele (representando 21%), o trato respiratório (representando 14%), e o trato urogenital (representando 10%) (ZAPICO et al., 2022).

Após a morte, as barreiras físicas e imunológicas do corpo começam a romper, proporcionando aos microrganismos contidos no microbioma humano à oportunidade de se espalhar e colonizarem locais anatômicos que normalmente não conseguiam acessar durante a vida do hospedeiro humano. Segundo Can et al. (2014), os órgãos se decompõem sequencialmente de acordo com a carga microbiológica presente no tecido, sendo associado ao intervalo de tempo *post-mortem* (PMI) (TUOMISTO et al. 2013). A Figura 2 abaixo ilustra a cronologia qualitativa da ordem de decomposição de acordo com os órgãos dependendo da morte e fatores ambientais. Os marcados em vermelho representam órgãos e tecidos que decompõe de maneira mais precoce, enquanto os destacados em amarelo representa a deterioração intermediária, e em azul aqueles que persistem por mais tempo depois da morte.

**Figura 2** – Imagem ilustrativa da decomposição cronológica dos órgãos



Fonte: JAVAN, 2019

A desintegração do cadáver é um processo complexo que envolve um ecossistema de microrganismos envolvido com o processo da decomposição da carcaça, denominado de necrobioma. Esse sistema engloba agentes microbianos que podem ser dividido em duas grandes classes: tanatomiobioma e comunidades epinecróticas (ZAPICO et al., 2022).

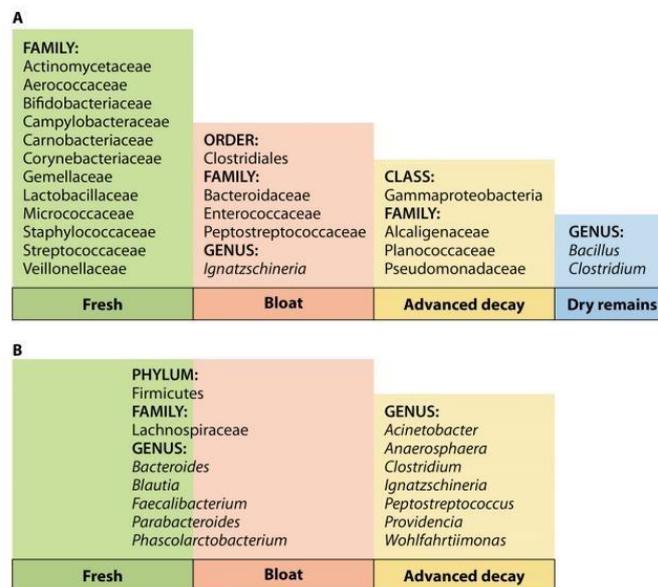
A tanatomiobioma consiste das colônias de bactérias/fungos exclusivas de órgãos internos do indivíduo enquanto as comunidades epinecróticas compreende os microrganismos em sua maioria transitórias e pertencentes ao ambiente que colonizam as áreas mais externas do corpo (ZAPICO et al., 2022).

A sequência das alterações sucessivas na quantidade e na composição relativa dos grupos taxonômicos dos agentes microbianos envolvidos em cada etapa da decomposição do cadáver, ao longo do intervalo *post-mortem*, podem ser utilizados na determinação da PMI, o qual se tornou o objetivo principal dos estudos da tanatologia. É importante notar que a sucessão bacteriana que ocorrem nas etapas de decomposição são influenciadas por mudanças fisiológicas que os organismos sofrem após a morte (GARCÍA, 2020).

A decomposição progride e as amostras entram em fase de inchaço (*Bloat*) como consequência da deficiência de oxigênio e acúmulo de gases como dióxido de carbono, metano ou ácido sulfúrico. Nessa fase, os microrganismos aeróbicos, que

são predominantes no tecido vivo, são substituídos por microrganismos anaeróbicos. O estágio de decomposição avançada (*Advanced decay*) é caracterizado pela presença de microrganismos naturais do solo, porque durante a decomposição da carcaça, se o mesmo se encontrar em um solo aonde contem vegetação, ocorre um enriquecimento de nutrientes e carbono na terra em que se encontra o cadáver, facilitando a proliferação. O último estágio (*Dry*) então é caracterizado principalmente por microrganismos esporulados que proporciona aos mesmos uma colonização mais rápida dado as condições ecológicas mais secas (GARCÍA, 2020).

**Figura 3** – Diagrama referente aos microrganismos presentes em cada etapa de putrefação



**Legenda:** Diagrama representativo que ilustra a relação entre a microbiota e o intervalo postmortem (PMI). (A) Diagrama representativo das alterações na microbiota durante as diferentes fases da decomposição humana. (B) Representação das comunidades microbianas presentes antes e depois da fase de inchaço na decomposição humana

**Fonte:** García (2020).

Apesar da facilidade proporcionada pela análise desses agentes biológicos, o grande desafio está inserido na interpretação correta dos resultados, exigindo não somente a avaliação de um microbiologista experiente, mas também na obtenção do maior número possível de dados comparativos, recolhidos durante a investigação criminal, por exemplo: histórico médico do falecido, análise toxicológica, detalhes sobre a localização do corpo e as condições ambientais (JAVAN et al., 2019; VENTURA SPAGNOLO et al., 2019).

### 3.3 Tanato microbioma e comunidades epinecróticas

A grande quantidade de microrganismos comensais e sua relação simbiótica com o corpo humano é responsável pela manutenção da saúde corpórea (KING et al., 2010). Assim como, a composição das comunidades microbianas que colonizam determinados locais do corpo pode mudar com o tempo. A alteração dessa dinâmica pode se dar através de fatores intrínsecos (estado de saúde e doença do indivíduo como obesidade, disfunções metabólicas, doenças autoimunes e de origem gênica) e extrínsecos (como temperatura, umidade, uso de antibióticos e o tipo da dieta) (ZHOU; BIAN, 2018; GONZALES et al., 2011). Essas comunidades nativas do corpo são responsáveis por influenciar as funções orgânicas e diretamente evitam infecções e a colonização de outros microrganismos devido o mecanismo de competição, ocupando o habitat que poderia ser ideal para a instalação de certas bactérias com potencial patogênico (KHAN et al., 2019). Internamente, a colonização por essas bactérias comensais se distribui e se limita a setores específicos ditos anteriormente, e os outros órgãos em sua maioria são considerados estéreis (RIBET; COSSART, 2015).

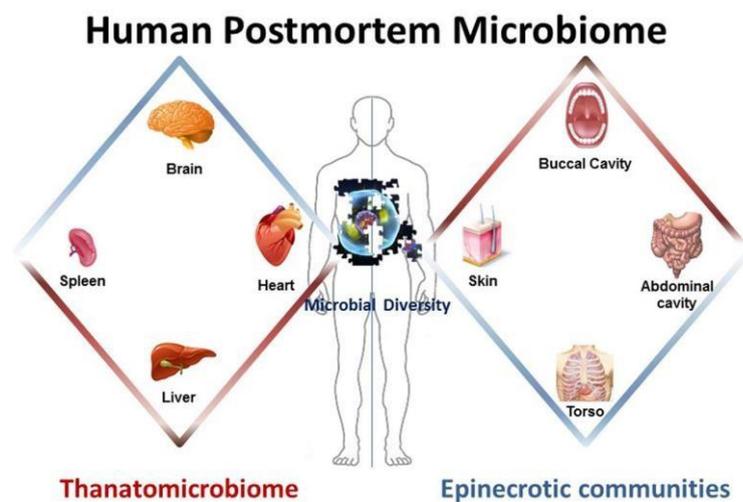
Quando ocorre o óbito do indivíduo, o ambiente interno do organismo sofre mudanças drásticas devido à autólise das células e consequente libertação de fatores intracelulares para os tecidos que servem de nutrientes para o crescimento microbiano. Nessa fase, o microbioma humano desempenha um papel fundamental na decomposição dos tecidos *post-mortem* (NOVO, 2018). Os dois principais grupos bacterianos envolvidos nesse processo são as comunidades epinecróticas e tanatomicrobioma (figura 4)

- **Comunidades Epinecróticas** - Esses microrganismos estão presentes na superfície corpórea e que se relacionam diretamente com o ambiente, portanto são mais suscetíveis a fatores bióticos e abióticos. Medeiam entre aeróbio, ou anaeróbio facultativos, e se apresentam em quantidade variável de acordo com o ambiente e umidade do solo. Os estudos focados nas comunidades epinecróticas normalmente analisam as informações obtidas da interação do cadáver com as condições ambientais específicas, inclusive com os microrganismos ambientais (ZHOU; BIAN 2018). Esses microrganismos são mais facilmente cultiváveis em relação aos tanatomicrobioma, podendo ser uma alternativa congruente para respostas mais rápidas em um cenário investigativo. Os estudos indicam que as bactérias presentes

na pele são mais resistentes a fatores ambientais como: radiação UV, umidade e temperatura (JAVAN et al., 2016). Frente às novas técnicas proporcionadas pela genética é possível sequenciar esses materiais coletados de tecidos e resíduos para detectar e identificar o tempo *postmortem*, utilizando como base a ação dessas bactérias/fungos (JAVAN et al., 2019).

- **Tanatomicrobioma** - Pesquisas apontam que dentro da estrutura corpórea (tecidos), a quantidade de microrganismos é tão abundante quanto a sua superfície. A grande parte desses microrganismos são descritos como anaeróbios obrigatórios e englobam bactérias e fungos encontrados nas porções mais internas da carcaça.

**Figura 4** - Porção corpórea aonde se encontra a Tanatomicrobioma e Comunidades epinecróticas



Fonte: Javan, (2016b).

Durante a morte, devido à grande carga microbiana intestinal, as bactérias intestinais são as responsáveis por digerir toda a porção cavitária, compondo portanto boa parte da tanatomicrobioma (DASH; DAS, 2020).

Estudos apontam que esta microbiota é composta majoritariamente por bactérias anaeróbicas, em geral cocos gram-positivos, e são eles: *Peptostreptococcus*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, e *Clostridium*. Logo, estes são indicados como os mais abundantes residentes do intestino grosso (SWIDSINKI et al. 2002).

De acordo com Ramakrishna (2007), análises fecais indicaram que a carga bacteriana inclui tanto a presença primária de *Bacteroides*, *Fusobacterium*,

*Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Ruminococcus*, e *Peptostreptococcus anaerobius* quanto anaeróbios facultativos como *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Shigella*, *Salmonella*, e *Yersini*.

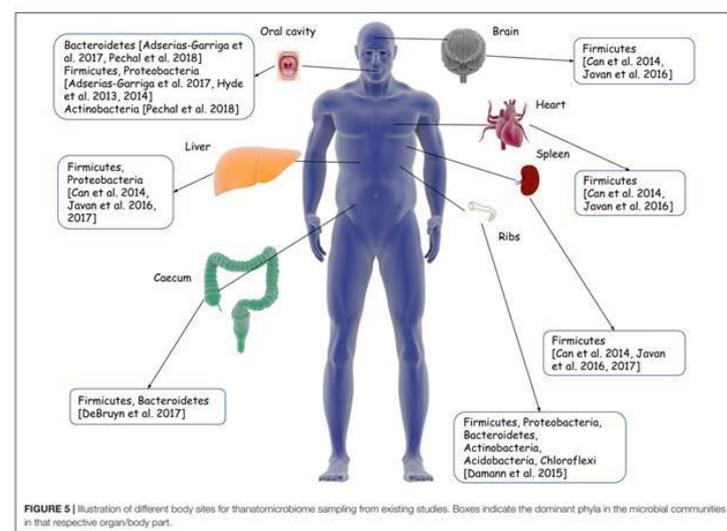
Assim como o intestino, a pele representa parte do microbioma e possui grande relevância forense visto que a interação entre esses microrganismos e a comunidade epinecrótica fornece uma pista importante na estipulação do PMI. Análises apontaram a predominância de 10 espécies em diferentes regiões do corpo variando entre: *Corynebacterium aurimucosum*, *Corynebacterium jeikeium*, *Corynebacterium pseudogenitalium*, *Corynebacterium tuberculostearicum*, *Micrococcus luteus*, *Propionibacterium acnes*, *Propionibacterium granulosum*, *Pseudomonas sp*, *Rothia mucilaginosa*, e *Staphylococcus epidermidis*, enquanto na representação fúngica temos a espécie *Malassezia globosa* (SCHMEDES et al., 2017)

Apontado como o segundo maior representante, quando se trata de abundância microbiológica, a cavidade oral normalmente nota-se a presença de *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, e *Neisseria* (AMABEBE and ANUMBA 2018).

O trato urogenital possui uma microbiota distinta que auxilia na manutenção da saúde reprodutiva, evitando doenças específicas. Uma abundância relativa de *Lactobacillus* é encontrada no canal vaginal e se beneficia do trato através do equilíbrio de pH (AMABEBE and ANUMBA 2018), tal qual a presença de *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, e *Proteobacteria* (DIOP et al. 2019).

Em contra partida, no órgão genital masculino, a composição microbiana se reflete na circuncisão. Estudos apontaram a presença de *Corynebacteriaceae*, *Oxalobacteraceae* na fase pré circuncisão e *Pseudomonadaceae* na fase pós (DIOP et al. 2019).

**Figura 5** – Representação de diferentes locais do corpo onde se encontra tanamicrobioma



**Fonte:** Roy et al. (2021).

### 3.4 O papel da tanatomicrobioma na determinação do tempode morte

A atividade microbiológica do necrobioma está intimamente relacionada à sequência dos diferentes estágios de putrefação, e suas ações circundam ao redor desses eventos, fazendo com que certos tipos microbianos proliferem em uma determinada fase enquanto outros se tornam cada vez mais inativos até serem extintos (ZHOU; BIAN 2018).

Após a morte, com a queda do sistema imune e o estabelecimento do processo de autólise causada pela falta de oxigenação dos tecidos, ocorre a proliferação dos microrganismos residentes da microbiota humana, principalmente aqueles pertencentes a porção intestinal (ZHOU; BIAN 2018).

Em condições de hipoxia, os nutrientes presentes no interior das células são liberados, servindo de alimento para determinadas bactérias anaeróbias. Neste período, esses microrganismos já se estabeleceram no organismo e, portanto, efetuaram sua migração para órgãos considerado estéreis, quebrando o ciclo de esterilidade de 5 dias pós-óbito (CAN et al., 2014, OLIVEIRIA; AMORIM 2018).

Além disso, a falta de oxigenação associada a queda constante de temperatura contribui para o contínuo declínio de parte da população microbiológica, principalmente de anaeróbicos como Bacteroidetes e Lactobacillus, que normalmente

são abundantes na microbiota do organismo humano vivo. Esse declínio é causada pela ação de gases oxidativos que são produzidos durante o processo da autólise celular (ZHOU; BIAN, 2018).

A contar deste momento, classifica-se o início do processo de coloração devido aos produtos das bactérias anaeróbicas na produção em larga escala de gases, levando a liberação de fluidos e ruptura das estruturas físicas, expondo a cavidade ao meio externo, permitindo o recolonização de bactérias aeróbicas. Uma mudança súbita do ambiente para aeróbico leva ao declínio das espécies anaeróbicas e a dominação de microrganismos aeróbicos, incluindo os de origem ambiental, servindo de marcadores para os estágios avançados de decomposição ou coliquativos (HAWKSWORTH; WILTSHIRE, 2011; JAVAN et al., 2019; OLIVEIRA; AMORIM, 2018).

Devido o esgotamento dos recursos nutricionais, o processo de decomposição se abranda significativamente, possibilitando a migração de microrganismos provenientes de pequenos insetos (por exemplo *Ignatzschineria* e *Wohlfahrtiimonas*) e vertebrados que se alimentam de matéria orgânica, resultando no estágio final de decomposição denominado esqueletização (JAVAN et al., 2019).

No estudo de Javan et al. (2016a) foram mapeados as principais bactérias que habitam o corpo a fim de verificar o processo de putrefação com dados condizentes e qualitativos. Os resultados são amplos e variam de acordo com sexo, ambiente, temperatura, utilização ou não de oxigênio e potencial de imigração/colonização. Ao longo da pesquisa foram analisados um total de 27 corpos, todos eles em um intervalo *post-mortem* de 3,5 a 240 horas, realizando sequenciamento de DNA de 66 espécies de microrganismos presentes no cadáver, utilizando 16 amplicons de rRNA. Os resultados obtidos foram os seguintes: quantidades relativas de DNA bacteriano intestinal (*Bifidobactérias*, *Bacteroides*, *Enterobactérias* e *Clostrídios*) sofrem um aumento com o tempo; os cadáveres do sexo feminino tiveram uma alta abundância relativa de *Pseudomonas* e *Clostridiales*; enquanto que os do sexo masculino tiveram predominância de *Clostridium*, *Clostridiales* e *Streptococcus*. Outro aspecto interessante neste estudo foi a diferença em relação ao tempo, onde *C. novyi* foi relativamente mais abundante em tempo *post-mortem* mais tardios, e, por outro lado, uma espécie de *Clostridium* desconhecida foi mais abundante num estágio inicial da

decomposição. Em termos de sítios do corpo, o cérebro, o coração, o fígado e o baço apresentaram uma composição estável da comunidade microbiana ao longo do tempo.

Algumas fontes descrevem que a quantidade de microrganismos em um determinado local acrescenta ao passo seguinte para que o processo de decomposição se perpetue. Segundo estes, o fígado passa a se tornar o órgão mais rico em tanatomiobioma visto que o tecido hepático em vida é o mais vascularizado e, portanto, faz uma conexão direta com outros órgãos como estômago e porção intestinal (CAN et al., 2014).

De acordo com Tuomisto et al. (2013), culturas obtidas de líquido pericárdico e do fígado revelaram manter-se estéreis até 5 dias após a morte, e os autores concluíram que estes são os melhores locais para amostra, pois raramente são contaminados e os resultados são verdadeiros positivos. Nesse estudo avaliou-se também a translocação de microrganismos dos sítios do corpo para os fluídos corporais, sendo observado pelo menos 21 gêneros bacterianos diferentes.

Segundo, Morris (2006) nos casos de bacteremia ou choque séptico, ocorre o adiantamento no processo de decomposição *post-mortem* devido a carga microbiana presente na corrente sanguínea momentos anteriores ao perecimento.

As comunidades microbiológicas ambientais variam significativamente através das localizações geográficas e tipos de ambiente, portanto, as estirpes ambientais identificadas no tanatomiobioma podem potencialmente inferir a localização do cadáver (CLARKE et al., 2017).

Portanto, as mudanças temporais num local do corpo, a troca de micróbios entre locais do corpo, bem como entre o ambiente e o cadáver, é também altamente ativa e fornecem informações necessárias para o estudo criminalístico.

### **3.5 Micologia forense**

Fungos são descritos em literaturas como decompositores naturais, tais quais as bactérias, e estão presentes na superfície corpórea compondo parte da comunidade epinecrótica, sendo que algumas espécies são apontadas como mais prevalentes devido sua afinidade com o meio, por exemplo a *Candida spp*, e, portanto, possuem relevância na tanatologia, mas com limitações pois ainda carece de estudos

complementares, segundo Menezes et al. (2008).

Pesquisas foram designadas com esse propósito no município de Viamão na região metropolitana do Rio Grande do Sul no ano de 2010, o qual foram utilizados duas carcaças de suínos, visto que possuem compatibilidade morfológica com humanos, sendo bem aceita e regulada sua utilização para estudos forenses (MENEZES et.al, 2008; PACHECO; YAMANAKA 2006). Um exposto ao sol e outro à sombra, análises foram realizadas após a coleta de amostras por swab em porção lombar e de crânio no intervalo de 30 dias afim de classificar as espécies envolvidas em temperaturas variáveis. Após o vigésimo dia, detectaram a presença de *Candida Spp*, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, indicando a quantidade de tempo necessário para que a reprodução fúngica atingisse o número adequado à sua identificação no exame direto, fornecendo evidências na estipulação de tempo *post-mortem* em um cenário de investigação forense. Os métodos utilizados para a detecção dos fungos foram o cultivo em ágar Saboraud e Mycosel, com intuito de inibir o crescimento bacteriano, e a sua visualização após a coloração por prata (SOUZA, 2018; GOEBEL et al., 2010).

Estudos apontam a relevância da micologia na investigação forense e na determinação do tempo *post-mortem* em um caso de um homem de 71 anos, que foi encontrado morto no fundo do poço no jardim de sua residência. O cadáver se encontrava parcialmente submerso e foi possível localizar o crescimento de colônias fúngicas esbranquiçadas. Estas em questão pertenciam a espécie *Penicillium sp.* e *Aspergillus terreus*, grupos que se estabelecem de 3 a 7 dias após a fixação das partes expostas, fornecendo importantes evidências que levaram à conclusão de o indivíduo se encontrava sem vida à pelo menos 10 dias, sendo assim a análise foi fundamental para estipular o tempo mínimo de morte (HITOSUGI et al., 2006).

**Tabela 1** - Análises das carcaças, suíno exposto ao sol (A) e suíno exposto á sombra (B)

DIA	5	10	15	20	30
<b>(A)</b>					
LOMBO	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Candida</i> sp.
NÁDEGAS	(-)	(-)	(-)	<i>Candida</i> sp.	<i>Candida</i> sp.
CABEÇA	(-)	(-)	(-)	<i>Candida</i> sp . macroconidio	<i>Candida</i> sp.
<b>(B)</b>					
LOMBO	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Candida</i> sp.
NÁDEGAS	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
CABEÇA	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Candida</i> sp.

(-) negativo.

Fonte: Goebel et al. (2010).

### 3.6 Coleta de material e Metodologia de análise do microbioma humano *Post-mortem*

A escolha do material utilizado para análise tem exímia importância, visto que, a porção ou órgão escolhido deve majoritariamente apresentar tecidos acompanhados dos estágios de putrefação, assim como a sucessão microbiológica. Algumas amostras podem indicar uma esterilidade aparente devido à presença de microrganismos que são difíceis ou impossíveis de cultivar. Nas rotinas forenses são utilizados fluidos (como sangue), órgãos internos (como fígado, baço, coração e cérebro) e amostras descritas como comparativas retiradas do local aonde foi encontrado o cadáver afim de detectar e analisar o microbioma do solo. Neste último tipo de amostra se enquadram a água, sedimento e detritos (HAWKSWORTH; WILTSHIRE, 2011; TUOSMISTO et al., 2013).

A análise microbiológica do material coletado pode ser realizada de duas formas: utilizando métodos de cultivo ou recorrendo a abordagens genéticas. A primeira delas está relacionada ao isolamento e cultivo de determinadas espécies do material do cadáver em meios microbiológicos especializados. Infelizmente, apesar dos resultados satisfatórios, como é conhecido pela elevada precisão na identificação taxonômica, este método é raramente utilizado na medicina legal, devido à dificuldades de cultivo e à demora da liberação do resultado resultado, ditado pelo cultivo a longo prazo de alguns microrganismos (JAVAN et al., 2016a; ZHOU; BIAN,

2018).

Por outro lado, a pesquisa genética é baseada na identificação de microrganismos pelo sequenciamento do gene 16S rRNA para bactérias e do ITS rDNA (separador interno transcrito) para fungos (ZHOU; BIAN, 2018). Porém esta técnica também possui suas limitações, como a necessidade de uma quantidade abundante de microrganismos e a restrição do teste em revelar apenas o gênero que elas pertencem. Além disso, a escolha ideal do primer se torna um desafio durante a PCR, não garantindo que a amostra isolada seja realmente pura (ZHOU; BIAN, 2018).

Atualmente, a ciência forense contempla técnicas de sequenciamento muito mais precisos, como o WGS (Whole Genome Sequencing) ou sequenciamento total do genoma e o SNP (Polimorfismo de nucleotídeo único), que abrangem quase todas as espécies bacterianas envolvidas no processo de putrefação e permitem uma análise mais específica, possibilitando isolar colônias que naturalmente não poderiam ser cultivadas em meios de cultura. Porém devido ao seu alto custo, o uso dos outros métodos se tornam mais viáveis (ZHOU; BIAN, 2018).

### **3.7 Principais problemas, dificuldades e limitações**

Devido as questões apresentadas anteriormente, grande parte da limitação e dificuldade na aplicação das técnicas impostas estão relacionadas à questões econômicas, sendo estes aplicados normalmente na área de pesquisa, assim como, tempo de detecção superior ao desejado e também a seleção correta de primers para evitar a contaminação das amostras com material gênico de outros organismos presentes no meio. A dinâmica das mudanças em que ocorre na colonização de microrganismos segue certo padrão contudo se influencia às variações climáticas sofridas no ambiente, local aonde se encontra o corpo (água ou terra), competição pelo meio, bem como a migração de vetores como moscas e outros insetos, e ação de animais, portanto a integridade cadavérica não pode ser garantida na maioria dos casos, influenciando diretamente na determinação de PMI (PINHEIRO et al., 2012).

## **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A Tanatologia pode se beneficiar dos microrganismos que fazem parte da

decomposição do cadáver como marcadores naturais dos diferentes tempos durante o processo. Parte das mudanças fisiológicas que ocorrem no cadáver se dá graças a interação dos microrganismos com compostos orgânicos presente no cadáver e do ambiente. A mudança de dinâmicas entre colonização de bactérias e fungos facilitam a estimativa de tempo *post-mortem* devido a condição nutricional seletiva de cada espécie.

Alguns microrganismos tem interações diferentes de acordo com o ambiente e devido este fator influenciam diretamente nas espécies bacterianas e/ou micológicas que sucedem no meio, se tornando um desafio na estimativa precisa de tempo *postmortem*. Devido a este fator, os microrganismos são considerados adjuvantes na detecção de tempo *post-mortem*, sendo necessário apoio de outras áreas da ciência forense como entamologia, análise clínica e biologia molecular.

Evidente que para que os microrganismos sejam utilizados de forma correta na estimativa é necessário de profissionais especializados capacitados e além de mais estudos recorrentes da área afim de amplificar a precisão das técnicas de identificação, abrangendo no processo um melhor custo benefício.

A microbiologia é um área em constante expansão e sua aplicação se tornou uma das maiores áreas de interesse biológico. Devido a expansão da tecnologia e investimento na biologia molecular, acredita-se que ocorra, com o passar dos anos, um enriquecimento das técnicas descritas anteriormente, e com elas uma melhor aplicação forense.

Acredita-se que com o avanço das pesquisas à esses microrganismos não só são efetivos, como essenciais e tornam possível uma detecção cada vez mais precisa e fidedigna garantindo seu holofote dentro da ciencia forênse.

## REFERÊNCIAS

AMABEBE, E.; ANUMBA, D.O.C. The vaginal microenvironment: the physiologic role of lactobacilli. **Frontiers in medicine**, v. 5, p. 181, 2018.

BANDARRA, E. P.; SEQUEIRA, J. L. Tanatologia: fenômenos cadavéricos transformativos. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 2, n. 3, p. 72-76, 1999.

BARBOSA, M.A. et al. APLICAÇÃO DE FUNGOS EM ESTUDOS FORENSES NO PROCESSO DE DEGRADAÇÃO CADAVERICA. **Saúde & Ambiente em Revista**, v. 7, n. 1, p. 10-18, 2012.

BESSA, V.A.L. Tanatologia: fenômenos cadavéricos abióticos e transformativos. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**. Ano 05, Ed. 01, Vol. 05, pp. 64-74. Janeiro de 2020. ISSN: 2448-0959

CAN .I, Javan GT, Pozhitkov AE, Noble PA. Distinctive thanatomicrobiome signatures found in the blood and internal organs of humans. *Journal of microbiological methods*, v. 106, p. 1-7, 2014.

CLARKE, T.H. et al. Integrating the microbiome as a resource in the forensics toolkit. **Forensic Science International: Genetics**, v. 30, p. 141-147, 2017.

DASH, H.R.; DAS, S. Thanatomicrobiome and epinecrotic community signatures for estimation of post-mortem time interval in human cadaver. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 104, n. 22, p. 9497-9512, 2020. Disponível em: Thanatomicrobiome and epinecrotic community

DIOP, K. et al. Exhaustive repertoire of human vaginal microbiota. **Human microbiome journal**, v. 11, p. 100051, 2019.

FÁVERO, F. **Medicina Legal**. Volume 1 – 12. ed. Belo Horizonte: Villa Rica; 1991.

FRANÇA, G.V. **Fundamentos de Medicina Legal**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018

GARCÍA, M.G. et al. Impact of the human microbiome in forensic sciences: a systematic review. **Applied and environmental microbiology**, v. 86, n. 22, p. e01451-20, 2020.

GOEBEL, C. S.; OLIVEIRA, F. de M.; SEVERO, L. C.; PICANÇO, J. B.; ALHO, C. S. Análise micológica durante a decomposição cadavérica. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas, [S. l.]**, v. 12, n. 1, p. 28–32, 2013. DOI: 10.9771/cmbio.v12i1.6487. Disponível em: <https://periodicos.ufba.br/index.php/cmbio/article/view/6487>. Acesso em: 10 ago. 2022.

GONZALEZ, A. et al. Our microbial selves: what ecology can teach us. **EMBO reports**, v. 12, n. 8, p. 775-784, 2011.

HAWKSWORTH, D.L.; WILTSHIRE, P.E.J. Forensic mycology: the use of fungi in criminal investigations. **Forensic Science International**, v. 206, n. 1-3, p. 1-11, 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Neeran-Jasim/publication/354651688>

HITOSUGI, M. et al. Fungi can be a useful forensic tool. **Leg. Med.**, Tokyo, v.8,n.4,p.240-242,2006.

JAVAN, G.T. et al. An interdisciplinary review of the thanatomicrobiome in human decomposition. **Forensic Science, Medicine and Pathology**, v. 15, n. 1, p. 75-83, 2019.

JAVAN, G.T. et al. Cadaver thanatobiome signatures: the ubiquitous nature of Clostridium species in human decomposition. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 2096, 2017

JAVAN, G.T. et al. Human thanatobiome succession and time since death. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-9, 2016a.

JAVAN, G.T. et al. The thanatobiome: a missing piece of the microbial puzzle of death. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 225, 2016b.

KHAN, R.; PETERSEN, F.C.; SHEKHAR, S. Commensal bacteria: an emerging player in defense against respiratory pathogens. *Frontiers in immunology*, v. 10, p. 1203, 2019.

KING, A.J.; FREEMAN, K.R.; MCCORMICK, K.F.; LYNCH, R.C.; LOZUPONE, C.; KNIGHT, R.; SCHMIDT, S.K. Biogeography and habitat modelling of high-alpine bacteria. *Nature communications*, v. 1, n. 1, p. 1-6, 2010.

LANG, J.M. et al. Microbial biofilm community variation in flowing habitats: potential utility as bioindicators of postmortem submersion intervals. *Microorganisms*, v. 4, n. 1, p. 1, 2016. Disponível em: **Microbial Biofilm Community Variation in Flowing Habitats: Potential Utility as Bioindicators of Postmortem Submersion Intervals** (nih.gov), 4 janeiro 2016.

LANG, A. **Homer and his age**. Charleston, SC: BiblioBazaar, 2008.

LIVRARIA CRIMINAL. Disponível em <https://lrvrariacriminal.wordpress.com/2015/01/28/corpo-humano-e-sua-decomposicao/>  
Acesso em: 12 de julho de 2022.

MENEZES, R.; KANCHAN, T.; LOBO, S. Cadaveric fungi: Not yet an established forensic tool. *J. Forensic Leg. Med.*, Kidlington, v. 15, n. 2, p. 124-126, 2008.

MORRIS, J. A.; HARRISON, L. M.; PARTRIDGE, S. M. Postmortem bacteriology: a re-evaluation. *Journal of Clinical Pathology*, v. 59, n. 1, p. 1-9, 2006.

MOURÃO, P.H.O.; MAGALHÃES, P.P.; MENDES, E.N. Microbiota indígena de seres humanos. 2005.

NOVO, P.P. *Microbiologia Forense e Estimativa do Intervalo Postmortem*. 2017.

OLIVEIRA, M.; AMORIM, A. Microbial forensics: new breakthroughs and future prospects. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 102, n. 24, p. 10377-10391, 2018. Disponível em: *Microbial forensics: new breakthroughs and future prospects* - PubMed (nih.gov), publicado em 9 out 2018;

PACHECO, J. W.; YAMANAKA, H. T. Guia técnico ambiental abate (bovino e suíno). São Paulo: CETESB, 2006. Disponível em: [http://www.cetesb.sp.gov.br/Tecnologia/producao\\_limpa/documentos/frigorifico.pdf](http://www.cetesb.sp.gov.br/Tecnologia/producao_limpa/documentos/frigorifico.pdf) >.

PALTIAN, J.J. et al. Post-mortem interval estimative through determination of catalase and  $\Delta$ -aminolevulinatase activities in hepatic, renal, skeletal muscle and cerebral tissues of Swiss mice. **Biomarkers**, v. 24, n. 5, p. 478-483, 2019.

PINHEIRO, D.S. et al. Variáveis na estimativa do intervalo pós-morte por métodos de entomologia forense. **Enciclopédia Biosfera**, [s. l.], 30 jun. 2012. Disponível em: <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2012a/biologicas/variaveis.pdf>. Acesso em: 14 out. 2022.

RAMAKRISHNA, B.S. The normal bacterial flora of the human intestine and its regulation. **Journal of clinical gastroenterology**, v. 41, p. S2-S6, 2007.

RIBET, D.; COSSART, P. How bacterial pathogens colonize their hosts and invade deeper tissues. **Microbes and infection**, v. 17, n. 3, p. 173-183, 2015.

ROY, D. et al. Microbiome in death and beyond: current vistas and future trends. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 9, p. 75, 2021.

SCHWARZ, P. et al. Molecular identification of fungi found on decomposed human bodies in forensic autopsy cases. **International journal of legal medicine**, v. 129, n. 4, p. 785-791, 2015. Disponível em: Molecular identification of fungi found on decomposed human bodies in forensic autopsy cases - PubMed (nih.gov) julho 2015

ZHOU, W.; BIAN, Y. Thanatomicrobiome composition profiling as a tool for forensic investigation. **Forensic sciences research**, v. 3, n. 2, p. 105-110, 2018.

SCHMEDES, S.E.; WOERNER, A.E.; BUDOWLE, B. Forensic human identification using skin microbiomes. **Applied and environmental microbiology**, v. 83, n. 22, p. e01672-17, 2017.

SOUZA, P.H.S. et al. A tanatognose por observação dos fenômenos cadavéricos. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**. a.3, e.7, v. 6, pp. 28-42, jul. 2018. ISSN: 2448-0959.

SWIDSINSKI, A. et al. Mucosal flora in inflammatory bowel disease. **Gastroenterology**, v. 122, n. 1, p. 44-54, 2002.

TUOMISTO, S. et al. Evaluation of postmortem bacterial migration using culturing and real-time quantitative PCR. **Journal of forensic sciences**, v. 58, n. 4, p. 910916, 2013. Disponível em: Evaluation of Postmortem Bacterial Migration Using Culturing and Real-Time Quantitative PCR - Tuomisto - 2013 - Journal of Forensic Sciences - Wiley Online Library, 29 de março de 2013;

URSELL, L.K. et al. Defining the human microbiome. **Nutrition reviews**, v. 70, n. suppl\_1, p. S38-S44, 2012.

ZAPICO, S.C.; ADSERIAS-GARRIGA, Joe. Postmortem Interval Estimation: New Approaches by the Analysis of Human Tissues and Microbial Communities' Changes.

**Forensic Sciences**, v. 2, n. 1, p. 163-174, 2022.

ZHOU, W.; BIAN, Y. Thanatomicrobiome composition profiling as a tool for forensic investigation. **Forensic sciences research**, v. 3, n. 2, p. 105-110, 2018. Disponível em: Thanatomicrobiome composition profiling as a tool for forensic investigation (nih.gov), publicado em 31 de maio de 2018;

# COVID-19 E SUA CORRELAÇÃO COM ALTERAÇÕES NA FERTILIDADE MASCULINA

## COVID-19 AND ITS CORRELATION WITH CHANGES IN MALE FERTILITY

Giulia Nascimento Diniz<sup>1</sup>

Bruna Karina Banin-Hirata<sup>2</sup>

Carolina Batista Ariza Tamarozzi<sup>3</sup>

182

### RESUMO

Em todo o mundo, a COVID-19 alcançou o número de 6,42 milhões de mortes até o momento. A maioria dos estudos presentes na literatura abrange a ação patogênica do vírus associada ao sistema respiratório, mas pouco se discute sobre outros sistemas do organismo e como são acometidos. Diante disso, o objetivo deste trabalho é discutir como o vírus Sars-CoV-2 afeta o sistema reprodutor masculino e sua correlação com a redução da saúde fértil masculina, relacionando seus efeitos diretamente ligados ao sistema reprodutor e de forma geral comparado a outras infecções. Foi comprovado que a COVID-19 gerou alterações persistentes em pacientes do sexo masculino, mesmo após meses do fim da infecção. Foram relatadas, na maioria dos casos, baixos níveis de testosterona e epididimite. Por se tratar de uma sintomatologia quase nula, muitos desses pacientes não tinham conhecimento do próprio caso clínico, incitando a necessidade de maior frequência da realização de exames de avaliação fértil. Dentre eles o espermograma, dosagens hormonais e testes de função espermática, já que comprometimentos como a epididimite, ocasionalmente é acompanhada por inflamação dos testículos (orquiepididimite), também são considerados fatores que propiciam a infertilidade. A compreensão das complicações férteis associadas ao COVID-19, desperta na população a busca de orientação médica, além de auxiliar na conduta terapêutica.

**Palavras-chaves:** ACE2; proteína *Spike*; sistema reprodutor masculino.

### ABSTRACT

Worldwide, COVID-19 has reached the number of 6.42 million deaths to date. Most studies in the literature cover the pathogenic action of the virus associated with the respiratory system, but little is discussed about other body systems and how they are affected. Therefore, the objective of this work is to discuss how the Sars-CoV-2 virus affects the male reproductive system and its correlation with the reduction of male fertile health, relating its effects directly linked to the reproductive system and in general compared to other infections. It was proven that COVID-19 generated

<sup>1</sup> Discente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). E-mail: giuliadiniiz@edu.unifil.br;

<sup>2</sup> Docente do Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Estadual de Maringá (UEM). E-mail: bkbhirata2@uem.br

<sup>3</sup> Docente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). E-mail: carolina.ariza@unifil.br

persistent changes in male patients, even after months of the end of the infection. In most cases, low levels of testosterone and epididymitis have been reported. As it is an almost null symptomatology, many of these patients were not aware of their own clinical case, inciting the need for a higher frequency of carrying out fertility assessment exams, such as spermograms, hormone dosages and sperm function tests, since compromises such as epididymitis, occasionally accompanied by inflammation of the testes (orchiepididymitis), are also considered to be factors that promote infertility. The understanding of the fertile complications associated with COVID-19, awakens in the population the search for medical guidance, in addition to assisting in therapeutic conduct.

**Keywords:** ACE2; protein *Spike*; male reproductive system.

## 1 INTRODUÇÃO

O Sars-CoV-2 provocou até o momento (Outubro, 2022) 6,52 milhões de óbitos no mundo todo sendo deste número 686 mil em território brasileiro, o que nos mostra uma necessidade acentuada de métodos de prevenção e tomadas limitantes para a segurança da população, mas além disso, evoca a importância do conhecimento da doença em todas as suas características e manifestações (BRASIL, 2022).

As complicações geradas pelo vírus são inúmeras, tipicamente relacionadas ao sistema respiratório e à imunidade dos indivíduos de forma geral. Estudos de seguimento clínico em pacientes com COVID-19 (Coronavírus disease 2019) são fundamentais para identificar sequelas respiratórias e imunológicas, mas também consequências que afetam outros sistemas do organismo humano (ADHIKARI et al., 2020).

A infertilidade é caracterizada como a incapacidade de conseguir uma gravidez após 12 ou mais meses de atividade sexual sem tomar medidas anticoncepcionais, nesse caso sobretudo, o acompanhamento da saúde reprodutiva masculina é de extrema importância considerando que 30% das causas de dificuldade reprodutiva são de origem unicamente masculina (MAYORGA TORRES et al., 2015).

Os indícios diretos da relação do vírus com o sistema reprodutor masculino começam pela análise da atividade do vírus no organismo, que para infectar as células epiteliais pulmonares utiliza um receptor denominado ACE2 (*Angiotensin Converting Enzyme*), encontrado expresso em tecido testicular, especificamente nas espermatogônias, células de Leydig e células de Sertoli, inclusive, em níveis

superiores ao encontrado em células pulmonares (MEDRADO et al., 2022; MA et al. 2020; YOUNIS et al., 2020).

Diante do exposto, é importante verificar se há correlação da COVID-19 com alterações no sistema reprodutor masculino, e como a infecção pode comprometer esse sistema a curto e longo prazo, uma vez que a preservação do funcionamento anatômico e fisiológico dessas estruturas influenciam diretamente as taxas de sucesso de gravidez.

## **2 MÉTODOS**

O presente trabalho foi realizado por meio de uma revisão bibliográfica, com caráter descritivo e qualitativo, sobre a correlação direta entre a contaminação pelo vírus Sars-CoV-2 e alterações na fertilidade masculina. O levantamento bibliográfico foi realizado através da busca por artigos científicos em bases de dados Google Acadêmico, PubMed e SciELO, utilizando como palavras-chave: COVID-19, infertilidade e sistema reprodutor. Foram adotados como critérios de exclusão, artigos não relacionados ao tema e publicações que não estiverem nos idiomas português e inglês. Foram utilizados artigos publicados, preferencialmente, no período de 2011 a 2022.

## **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **3.1 ENTENDENDO A COVID - 19**

Em 31 de Dezembro de 2019, presenciamos o primeiro caso confirmado de Coronavírus no mundo, em Wuhan na China. Desde então, os casos começaram a se espalhar rapidamente pelo mundo: primeiro pelo continente asiático, e depois por outros países. Até que em fevereiro de 2020, a transmissão da COVID-19, nome dado à doença causada pelo SARS-CoV 2, no Irã e na Itália, chamou a atenção pelo crescimento rápido de novos casos e mortes, e em decorrência foi identificado o primeiro caso do Brasil, em São Paulo. A doença COVID-19, acomete o sistema respiratório possuindo uma alta capacidade de disseminação no organismo levando a lesões pulmonares severas, e muitos dos pacientes evoluem para formas graves em que a insuficiência respiratória exige intubação orotraqueal, ventilação mecânica e

cuidados intensivos (ROBBA et al., 2020).

No Brasil, a COVID-19, até o momento, resultou em 34 milhões de casos e totalizou 680 mil mortes. Sua alta capacidade de transmissão está associada ao elevado número de casos graves, e a falta de protocolos de tratamento para doentes podem ocasionar a aceleração no aumento do número de casos, saturando os sistemas de saúde em todo o mundo (FERGUSON et al., 2020).

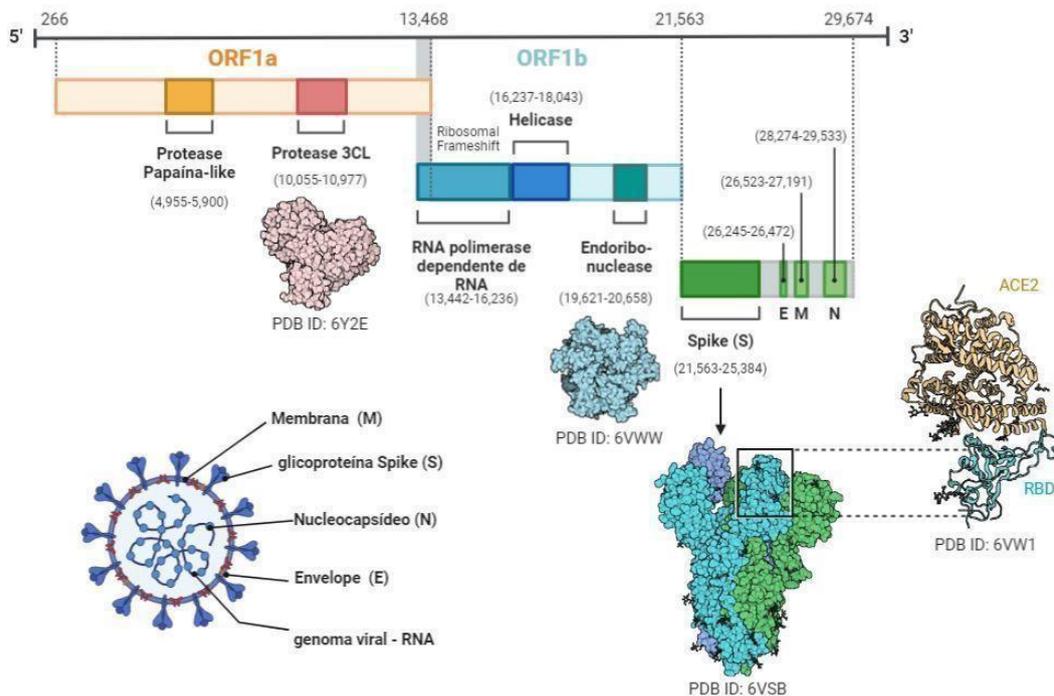
Em média, os sintomas aparecem 5 ou 6 dias após ser infectado com o vírus, mas em alguns casos a infecção pode persistir por até 14 dias. A sintomatologia da doença é de caráter inespecífico, sendo esse uma das maiores dificuldades do tratamento em si e possíveis tratamentos adjuvantes, pois pode variar desde sintomas gripais leves a perda de olfato e paladar, além claro, das dificuldades respiratórias e alterações fisiológicas. No geral, os infectados apresentam febre, cansaço, tosse seca e persistente, como sintomas mais comuns. Em alguns casos pontuais os pacientes apresentaram dores e desconfortos, dor de garganta, diarreia, conjuntivite, dor de cabeça, perda de paladar ou olfato, erupção cutânea na pele ou descoloração dos dedos das mãos ou dos pés, que são sintomas mais incomuns (GUAN et al., 2020).

Quanto às características do vírus propriamente dito, o SARS-CoV-2 se trata de um vírus, cujo material genômico é do tipo RNA fita simples sentido positivo, ou seja, serve diretamente para síntese proteica, assim, a geração de novas cópias do vírus na célula infectada ocorre de forma simplificada, e com velocidade acelerada. São envolvidos por um envelope de lipídeos e proteínas, e seu tamanho é de aproximadamente cem nanômetros. (SILVEIRA et al., 2022).

Seu material genético possui uma região não codificante 5' terminal, uma região codificante denominada fase de leitura aberta (ORF, do inglês "*Open Reading Frame*"), que é uma sequência de DNA entre um códon de início (normalmente uma metionina, ATG) e um códon de parada (TAA, TAG ou TGA na maioria dos genomas). Em relação a sua estrutura (Figura 1), algumas proteínas são essenciais para sua ação infecciosa, principalmente a proteína *Spike* (S), caracterizada como proteína infectante, é o fator presente na superfície viral permitindo a entrada na célula hospedeira pela interação e reconhecimento com seu receptor alvo (RBD, do inglês *receptor-binding domain*); a proteína codificada pela região "e", denominada proteína do Envelope (E), encontrada em pequena quantidade, atua facilitando a liberação do

vírus e participa ativamente de sua montagem; a proteína de Membrana (M), possui a função de determinar o sítio de brotamento do vírus, e atua junto a proteína E em sua montagem; e a região “n” que codifica a proteína N, única presente no capsídeo, tem seu papel no empacotamento do genoma e na replicação; e como limitante uma região não codificante 3' terminal (SILVEIRA et al., 2022).

**Figura 1 - Estrutura genômica do SARS-COV-2**



**Legenda:** O genoma codifica dois grandes genes ORF1a (amarelo), ORF1b (azul), que codificam as proteínas estruturais, spike (S), envelope (E), membrana (M) e nucleocapsídeo (N), destacados em verde. As proteínas acessórias (tons de cinza) são exclusivas do SARS-CoV-2 em termos de número, organização genômica, sequência e função.

**Fonte:** Adaptado de Alanagreh (2020)

### 3.1.1 Infecção por SARS - COV - 2

Se destacando, a proteína *Spike*, ou proteína S, é uma espícula glicoproteica que se liga fortemente à enzima ACE2. A ACE2 está presente nas células epiteliais brônquicas do trato respiratório, o que torna esse tecido mais propício à infecção, já que o trato respiratório é uma das principais portas de entrada para microrganismos e essa afinidade com o receptor faz dele o primeiro contato do vírus com o organismo. As características estruturais da proteína S são o motivo pelo qual os coronavírus são

nomeados assim: a conformação da proteína ao redor do vírus lembra ligeiramente uma coroa, recebendo então a denominação “corona”, originada do latim (LI, 2014; ALANAGREH et al., 2020). Sobretudo, como a entrada do SARS-CoV-2 na célula ocorre principalmente por meio da ligação da proteína *spike* com seus respectivos receptores, isso significa que os anticorpos produzidos contra ela são capazes de impedir a entrada do coronavírus, neutralizando-o (SILVEIRA et al., 2022).

O SARS-CoV-2 tem tropismo pelas células epiteliais das vias aéreas superiores e inferiores, dessa forma, a principal porta de entrada é através da mucosa nasal, bucal e através do ducto lacrimal. Estudos sugerem que haja, inicialmente, replicação viral na mucosa do trato respiratório superior, seguida de uma maior replicação no trato inferior, até se estabelecer por completo no tecido alvo e continuar migrando para outras estruturas. A infecção por SARS-CoV-2 desencadeia dano e morte celular, induzindo a produção de citocinas pró-inflamatórias e possibilitando a hiperconetomia, ou termo popular “tempestade de citocinas”, quando o sistema imunológico desenvolve uma resposta excessiva, que causa danos aos tecidos próprios pela não seletividade de sua ação (JIN et al., 2020b; ROTHAN; BYRAREDDY, 2020; MEHTA et al., 2020).

A princípio, o gene ACE2 é responsável pela expressão da proteína de mesmo nome, ACE2. Essa proteína está expressa na superfície das células e é homóloga à uma proteína já conhecida ACE (em português: ECA) – responsável pela regulação da pressão arterial dentro do sistema renina-angiotensina. Nesse sentido, a variante ACE2, descoberta no ano 2000, é muito semelhante em estrutura (cerca de 42%) mas faz o papel inverso da ACE. Enquanto a última faz vasoconstrição e consequente aumento da pressão arterial, a ACE2 promove a vasodilatação e diminui a pressão arterial. Complicações podem ser associadas a esses fatores, como por exemplo, em pacientes com cardiopatias crônicas, o uso de medicamentos que desempenhem papéis regulatórios podem inibir a proteína ECA (vasoconstritora), estimulando uma maior expressão da proteína ACE 2, por mecanismo compensatório, o que dita uma maior suscetibilidade desses pacientes a adquirirem a doença (MARTINS et al., 2020). Dessa forma atua desregulando o sistema renina-angiotensina, agravando a inflamação (JIN et al., 2020; ROTHAN; BYRAREDDY, 2020; MEHTA et al., 2020), e sua consequência é um dano severo podendo levar até a falência renal em alguns

casos.

A proteína S do vírus se acopla ao ACE2 para que haja a fusão da membrana viral com a célula ou a endocitose, a partir disso, é liberado o RNA que está no interior do vírus, a proteína S tem um formato de cabeça de prego, com uma porção mais larga e outra mais estreita. A mais larga é chamada de porção S1 e é nela que está a parte que se liga ao receptor ACE2, o aumento da expressão dessa molécula na superfície das células desses pacientes pode aumentar a chance de infecção e até mesmo influenciar na gravidade da doença. Considerando que as alterações no gene ACE2 podem modificar a expressão ou função proteica, o prognóstico pode variar entre indivíduos acometidos, explicando porque a sintomatologia se diferencia tanto de um quadro para outro (WANG et al., 2020).

Após infectar a célula humana, os ribossomos da célula hospedeira traduzem as informações contidas no material genético viral, produzindo proteínas como a RNA polimerase do vírus. Essa enzima replica o material genético do vírus dentro da célula hospedeira, produzindo primeiro uma fita intermediária de RNA sentido negativo (subgenômico) e, depois, novas fitas de sentido positivo. Essas últimas vão compor novas partículas virais, após serem associadas a proteínas virais, como receptores de superfície. A montagem final dos novos vírus ocorre no retículo endoplasmático e no complexo de Golgi da célula hospedeira, e após a montagem as partículas saem da célula e estão prontas para infectar outras novas células (GORBALENYA et al., 2020).

### 3.2 SINTOMATOLOGIA E TRATAMENTO

Conforme mencionado anteriormente, no início da manifestação da doença é comum apresentar febre, tosse, dispneia e mialgia, centralizando os sintomas para sistemas superiores do organismo. Mas em geral, evidências comprovam que a infecção de células endoteliais que intermedeiam o contato entre sangue e tecidos corporais, favorecem a disseminação do vírus pelo corpo todo, e considerando a hipercoagulação na doença, estudos publicados por Costa-Filho (2021) propõem que a COVID-19 seja a primeira infecção classificada como febre viral trombótica. Atualmente, o agravo é classificado como Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG), a SRAG é uma nomenclatura utilizada para retratar um acometimento clínico inespecífico, uma vez que pode abranger uma série de manifestações que podem ser

classificadas em leves, graves e moderadas. Sendo as leves, inespecíficas e muito semelhantes a sintomas gripais convencionais (GORBALENYA et al., 2020), considerando ainda a grande parcela da população que apresentou caso clínico assintomático e outros sintomas como perda de olfato e paladar que não são impostos em todos os casos, mas que se tornaram patognomônicos da doença, esse grupo inserido no estágio leve representa 81% dos casos. Levando o caso adiante, os sintomas moderados apresentam acentuação dos sintomas gerais, com presença ou não de pneumonia, diarreia progressiva e piora progressiva dos sintomas gripais, sendo representado por 14% dos casos. E a classificação grave descreve casos acentuados de falhas respiratórias severas, infecções e focos de inflamação por todo corpo e ainda falência de alguns órgãos, levando a múltiplas disfunções orgânicas, somando 5% dos casos (GORBALENYA et al., 2020).

Assim como nossos pulmões, nosso sistema circulatório possui uma significativa presença da proteína ACE2, dessa forma o vírus adentra novas células por via disseminativa. Com isso, é capaz de promover as mais diversas manifestações cardíacas, dentre elas, a formação de coágulos sanguíneos, tromboembolismo pulmonar, miocardite (inflamação do coração), arritmias, insuficiência cardíaca e ataque cardíaco (GUPTA et al., 2020). Outro órgão pouco citado é o fígado, mas que tem sua relevância comprovada em significativamente metade dos casos de COVID-19, que apresentaram sinais de danos reais a esse órgão (MAO et al., 2020). O que esses órgãos têm em comum é o dano gerado pela resposta imune exacerbada que além de agressão tecidual pode levar a sinais graves de inflamação afetando todo o bem-estar do indivíduo (ROBBA et al., 2020), levando a perda de paladar, olfato e até mesmo complicações oculares (GAVRIATOPOULOU et al., 2020).

Quando associamos todas essas informações sobre a COVID-19 aos danos causados no organismo, podemos entender como o vírus facilmente pode passar despercebido, o que além de ser um risco pensando pelo lado da transmissão, também é um risco para o próprio paciente que não tendo conhecimento do seu quadro infeccioso, não busca acompanhamento médico nem se conscientiza sobre os efeitos da virologia em seu organismo. Essa problemática em torno do quadro assintomático, pode levar a destruição de tecidos, agressão a células e cronicidade, fatores que muitos indivíduos só adquiriram consciência após consultas de rotina semanas ou meses depois (GORBALENYA et al., 2020).

Quanto aos métodos de tratamento adotados até o momento, não há protocolo rígido a ser seguido pela variação sintomatológica dos casos, dado isso foram adotadas medidas de isolamento nos casos de sintomas leves e cuidados médicos com o intuito de amenizar o quadro clínico, não efetivamente erradicando a infecção. Algumas ações como, beber quantidades adequadas de água, uso tópico ou por via subcutânea de medicamentos como o Tocilizumabe que pode ser eficaz devido ao seu potencial de controle sobre doenças inflamatórias e desordens no sistema imunológico, ele atua no processo de sinalização da atividade inflamatória, inibindo e controlando os mensageiros de inflamação, de forma que nosso sistema seja capaz de combater a contaminação, mas sem gerar danos graves por sua inespecificidade, fator patognomônico para complicações e agravamento dos casos. O tocilizumabe é um anticorpo monoclonal recombinante do subtipo IgG1, capaz de neutralizar os efeitos da IL-6 no organismo. A Interleucina-6 é o mais importante mediador da resposta inflamatória da Síndrome da Tempestade de Citocinas e seus níveis se correlacionam com os casos mais graves da síndrome (LIU, Bingwen et al. 2020).

Importante ressaltar que nenhum desses órgãos seriam acometidos se não houvesse expressão dos receptores ACE2 permitindo a inserção do vírus nas células, e nesse ponto deve-se destacar os testículos como segundo órgão depois do pulmão a apresentar quantidades elevadas desse receptor (WANG et al., 2020).

### 3.3 INFERTILIDADE MASCULINA

O sistema reprodutor masculino, sendo um sistema bem compartimentado, conta com diversas áreas funcionais, que embora interligadas como em todos os sistemas, são responsáveis por processos específicos independentes que, partindo de um núcleo de produção, tornam alterações irreversíveis. Dito isso, uma alteração presente no início da espermatogênese é levada até o momento final, sem reparo até que o sêmen seja liberado (MOORE et al., 2019). De acordo com sua estrutura anatômica, o sistema reprodutor masculino é dividido em órgãos internos, sendo testículos, epidídimos, ductos deferentes, glândulas seminais, ductos ejaculatórios (incluindo a uretra), próstata e glândulas bulbouretrais, e órgãos externos incluindo o pênis, a porção distal da uretra e o escroto (MOORE et al., 2019).

Nos testículos encontramos os túbulos seminíferos, esses que compõem o

processo de gametogênese, realizando a produção e maturação de espermatozoides a partir de espermatogônias presentes em sua conformação primordial, que evoluem para espermatócitos e espermátides contendo o último grau evolutivo. Dos túbulos seminíferos os fluidos contendo os espermatozoides são conduzidos pela rede testicular até o epidídimo, sendo este uma estrutura alongada localizada na face posterior do testículo. É formado por minúsculas alças (ou ductos) extremamente compactados, que absorvem parte do fluido tornando o sêmen mais consistente. Nessa região os espermatozoides já maduros ficam armazenados até o momento de liberação, ascendendo o ducto deferente, alcançando o ducto ejaculatório e sendo expelido pela uretra. Toda a passagem dos espermatozoides desde sua produção até seu armazenamento são cruciais para a qualidade do sêmen e o sucesso da fertilização (MOORE et al., 2019).

Entendendo o funcionamento e desempenho normal, a infertilidade pode ser a soma de diversos fatores sejam intrínsecos ou extrínsecos, em homens especificamente, a infertilidade pode surgir a partir de oligospermia (baixa contagem dos espermatozoides), azoospermia (ausência total dos espermatozoides); gametogênese anormal; incapacidade de fecundação do espermatozoide, anomalias morfológicas ou de mobilidade, ou baixa qualidade. Em todos os casos suas origens são caracterizadas como multifatoriais, acoplando fatores como estresse, poluição, alimentação inadequada, exposição ocupacional, e o consumo de algumas substâncias como o álcool e o cigarro. Estes últimos podem influenciar interferindo no ciclo reprodutivo e na função sexual de homens e mulheres, além de estarem relacionados às alterações hormonais e à diminuição no sucesso de tratamento de reprodução assistida, sendo prejudiciais durante a gestação, e ocasionando anormalidades congênitas e expressões de cunho genético (RODRIGUES; DANTAS, 2022).

Além dos fatores intrínsecos ao organismo, às infecções crônicas podem afetar os espermatozoides e são consideradas um fator de risco na infertilidade masculina, envolvendo infecções bacterianas, virais, protozoárias e fúngicas, muitas das quais permanecem assintomáticas na maior parte do tempo. A abundância de leucócitos no sêmen como consequência da resposta imunológica provocada (tempestade de citocinas) pode ser usada como indicador de infecção urogenital. Sua contribuição na

infertilidade masculina pode chegar a 30% e o quadro clínico é denominado leucocitospermia (RODRIGUES; DANTAS, 2022).

Algumas das infecções mais conhecidas são, o vírus da caxumba, da imunodeficiência humana, e o papilomavírus humano, ambas desencadeiam reações imunológicas associadas a suas ações patológicas, e como consequência levam a danos nos componentes estruturais desse sistema. Dentre essas infecções, a sintomatologia comum, é a capacidade de gerar inflamação crônica nos testículos, causando uma queda na produção de, entre outros hormônios, a testosterona (DUARTE-NETO et al., 2020; RODRIGUES; DANTAS, 2022).

Assim, a infertilidade humana é conceituada de várias formas, pois depende do diagnóstico prévio da infertilidade, enfermidade, idade ou qualquer outro motivo que impeça a gravidez (MAYORGA TORRES et al., 2015).

### 3.4 CORRELAÇÃO DA INFERTILIDADE COM A COVID - 19

Em um estudo realizado por Carneiro e colaboradores, foram analisados 26 pacientes em condições férteis normais infectados pela COVID - 19, em geral todos apresentavam sintomas leves a moderados da doença, e não se queixavam de nenhuma injúria relacionada ao sistema reprodutor. Mesmo não apresentando nenhum indício direto, após análise 42,3% (n=11) apresentaram epididimite, inflamação que acomete o epidídimo, um canal localizado na parte posterior dos testículos. O epidídimo é um órgão com 6 metros de comprimento, por onde os espermatozoides passam para adquirir uma série de funções bioquímicas que visam fertilizar o óvulo, qualquer comprometimento que afete essa região é de grande importância prejudicando a capacidade hormonal do órgão e suas respostas funcionais de maturação, e dado os altos níveis de ACE 2 nesse órgão os testículos são alvos diretos dessa infecção (CARNEIRO et al, 2021).

Apesar de ser um teste inicial e não ter condições de diagnosticar fertilidade ou infertilidade, o espermograma de vários pacientes infectados pela COVID - 19 têm indicado, por exemplo, que a motilidade espermática - a capacidade de os espermatozoides se moverem e fertilizar o óvulo, cujo índice normal é acima de 50% - caiu para entre 8% e 12% e permaneceu nesse patamar quase um ano após terem sido infectados pelo SARS-CoV-2 (YANG et al., 2020). Em busca de desordens

fisiopatológicas provocadas pelo SARS-CoV 2 nos testículos, Yang et al. (2020) identificaram uma série de alterações nos túbulos seminíferos de pacientes com COVID-19, demonstrando 18,2 % de lesões leves; 45,5% de lesões moderadas e 36,4% de lesões graves.

Não obstante, sobre o efeito do SARS-CoV-2 na função dos testículos, Ma et al. (2020) identificaram que homens com COVID-19 apresentaram níveis séricos elevados de hormônio luteinizante (LH) e prolactina (PRL), em homens níveis elevados de LH podem indicar insuficiência testicular primária, provocada por defeitos de desenvolvimento do crescimento dos testículos ou lesão nos testículos. Entretanto, existe também uma preocupação quanto às repercussões do vírus no cérebro, tendo em vista que o comprometimento no eixo hipotálamo-hipófise-gonadal também pode comprometer a fertilidade masculina devido a um desequilíbrio na produção hormonal (VISHVKARMA; RAJENDER, 2020).

Já os testes hormonais apontam que os níveis de testosterona de muitos deles também despencaram após a doença, necessitando de reposições farmacológicas, dado que esses níveis não apresentaram melhora mesmo após meses da infecção pelo SARS-CoV-2. Acredita-se que este último achado possa estar associado a uma disfunção testicular ou danos nas células de Leydig, provavelmente provocados pela infecção viral, tendo em vista que estas células são as responsáveis pela produção de testosterona sob regulação do LH (MA et al. 2020). De acordo com Duarte Neto (2020), mesmo que as funções testiculares para a produção de espermatozoides sejam independentes, há uma comunicação direta e processual entre todas as etapas, e os hormônios desempenham um papel de regulação essencial, sendo assim, qualquer alteração que comprometa as células de Leydig e sua síntese hormonal, a fertilidade como um todo será diminuída. Enquanto o nível normal de LH é de 300 a 500 nanogramas por decilitro de sangue (ng/dL), em pacientes que tiveram COVID-19 esse índice chegou a variar abaixo de 200 e, muitas vezes, ficou entre 70 e 80 ng/dL (DUARTE-NETO et al, 2020).

Algumas das prováveis causas da diminuição da espermatogênese nesses pacientes foram lesões causadas pelo vírus nos vasos do parênquima testicular, com a presença de trombos, que levaram à hipóxia - ausência de oxigenação nos tecidos -, além de fibroses que obstruem os túbulos seminíferos, onde os espermatozoides

são produzidos (DUARTE-NETO et al., 2020).

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Tendo em vista os aspectos observados, é imprescindível que todos se conscientizem das consequências do COVID-19 para além do sistema respiratório, trazendo um enfoque especial para o sistema reprodutor, como alvo de complicações fisiológicas a longo prazo. Os efeitos são consideráveis, e podem comprometer jovens férteis acometidos pelo vírus e indivíduos que estejam em tratamento de reprodução assistida, podem ter complicações acentuadas.

A implantação de exames quantitativos e qualitativos em relação ao sêmen e a viabilidade de espermatozoides auxiliam na confirmação de tais anormalidades, surge a partir disso a necessidade de torná-los mais frequentes na vida da população masculina. Novas pesquisas podem ser realizadas visando uma análise mais a fundo sobre a ação do vírus nas células de Leydig e como esse comprometimento dita complicações hormonais e funcionais, além de classificar melhor as injúrias acometidas, descrevendo a sintomatologia esperada e suas devidas alterações na estrutura dos espermatozoides, por exemplo. Muito pode se discutir sobre essas alterações, principalmente em relacionar a expressão dos danos ao sistema reprodutor à gravidade da infecção pelo Covid - 19.

A redução da fertilidade implica não só a saúde masculina, mas o desenvolvimento da sociedade como um todo, pensando no alto número de jovens infectados, que podem apresentar comprometimentos em relação a sua fertilidade em um futuro próximo. E conscientizar sobre esses malefícios pode auxiliar no desenvolvimento de tratamentos e formas de reverter tais alterações, que contribuem diretamente para o aumento da infertilidade de forma geral.

Com todos esses fatores comprovados, se torna impossível ignorar a relação direta entre alterações na produção de espermatozoides saudáveis e os efeitos pós infecção gerados pelo COVID- 19.

## REFERÊNCIAS

ALANAGREH, Lo’Ai; ALZOUGHLOOL, Foad; ATOUM, Manar. The human coronavirus disease COVID -19: Its origin, characteristics, and insights into potential drugs and its mechanisms. **Pathogens**, v. 9, n. 5, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-0817/9/5/331>

ADHIKARI, S. P., Meng, S., Wu, Y.-J., Mao, Y.-P., Ye, R.-X., Wang, Q.-Z., ... Zhou, H. (2020). Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control of coronavirus disease (COVID- 19) during the early outbreak period: A scoping review. **Infectious Diseases of Poverty**, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s40249-020- 00646-x>

AIMAN, J., Brenner, P. F., & Macdonald, P. C. (1980). Androgen and es- trogen production in elderly men with gynecomastia and testicu- lar atrophy after mumps orchitis\*. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, 50(2), 380–386. <https://doi.org/10.1210/ jcem-50-2-380>

ASRM. (n.d.). American Society For Reproductive Medicine (Asrm) Patient Management And Clinical Recommendations During The Coronavirus (Covid-19) **Pandemic Update #3**. Retrieved from <https://www.asrm.org/news-and-publications/COVID -19/statements/patient-management-and-clinical-recommendations-during-the-coronavirus-COVID -19- pandemic/>

BRASIL. Ministério da Saúde. **Secretaria de Vigilância em Saúde**. \*Boletim Epidemiológico Especial: COVID-19\*. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Análises & Incorporações**. Uso do tocilizumabe para tratamento da COVID-19. 2022.

CARNEIRO, F, Teixeira, TA, Bernardes, FS, et al. Radiological patterns of incidental epididymitis in mild-to-moderate COVID-19 patients revealed by colour Doppler ultrasound. **Andrologia**. 2021;**53**:e13973. <https://doi.org/10.1111/and.13973>

DUARTE-NETO, AN, Teixeira, TA, Caldini, EG, et al. Testicular pathology in fatal COVID-19: A descriptive autopsy study. **Andrology**. 2021; 1– 11. <https://doi.org/10.1111/andr.13073>

DOLHNIKOFF M, Duarte-Neto AN, de Almeida Monteiro RA, da Silva LFF, de Oliveira EP, Saldiva PHN, Mauad T, Negri EM. Pathological evidence of pulmonary thrombotic phenomena in severe COVID-19. **J Thromb Haemost**. 2020 Jun;18(6):1517-1519. doi: 10.1111/jth.14844. PMID: 32294295; PMCID: PMC7262093.

FAN, C., Li, K., Ding, Y., Lu, W. L., & Wang, J. (2020). ACE2 expression in kidney and testis may cause kidney and testis damage after 2019-nCoV infection. **MedRxiv**, 2020.02.12.20022418. <https://doi.org/10.1101/2020.02.12.20022418>

FERGUSON NM, Laydon D, Nedjati-Gilani G, et al. Impact of non-pharmaceutical

interventions (NPIs) to reduce COVID-19 mortality and healthcare demand. **London: Imperial College London**, March 16, 2020.

GAVRIATOPOULOU, Maria et al. Organ-specific manifestations of COVID-19 infection. **Clinical And Experimental Medicine**, v. 20, n. 4, p. 493-506, 27 jul. 2020. Springer Science and Business Media LLC. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s10238-020-00648-x>

GEHA YF, Coutinho FM, Marvão MCR, Nogueira TLP, Mota ACC, Lucena CCC, et al. Análise epidemiológica comparativa entre as pandemias causadas pelos vírus Influenza A (H1N1)pdm09 e SARS-CoV-2 no estado do Pará, Brasil. **Rev Pan Amaz Saude**. 2021;12:e202100862. Doi: <http://dx.doi.org/10.5123/S2176-6223202100862>

GORBALENYA AE, Baker SC, Baric RS, Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. **Nature Microbiol** [Internet]. 2020 Mar [cited 2020 Jul 31];5(4):536-44. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>

GUAN W , Ni Z , Hu Y , Liang W , Ou C , He J , et al : Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China . **N Engl J Med** [ Internet ]. 2020 Apr [ cited 2020 Jun 1 ]; 382 ( 18 ): 1708 - 20 .

GUPTA, Aakriti et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nature Medicine*, v. 26, n. 7, p. 1017-1032, jul. 2020. **Springer Science and Business Media LLC**. doi: <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-020-0968-3>

GUARALDI G et al. Tocilizumab in patients with severe Covid-19: a retrospective cohort study. **The Lancet Rheumatology**. 2020 June.

HAMMING, I., Timens, W., Bulthuis, M. L. C., Lely, A. T., Navis, G. J., & van Goor, H. (2004). Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. **Journal of Pathology**, 203(2), 631–637. <https://doi.org/10.1002/path.1570>

HELMS J, Tacquard C, Severac F, Leonard-Lorant I, Ohana M, Delabranche X, et al. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study. **Intensive Care Med**. 2020; 46(6): 1089-98.

HORTON R. Offline: COVID-19 is not a pandemic. **Lancet**. 2020; 396(10255): 874.

JIN, Ying-Hui et al. A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version). **Military Medical Research**, v. 7, n. 1, p. 4, 2020b.

JSF. (n.d.). Jordanian society for fertility and genetics JFSG guidance on recommencing ART and infertility treatments during COVID-19 out- break date of publication. **Retrieved** from <http://www.fertigen.com.jo/>

LAN, Shao-Huan et al. Tocilizumab for severe COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **International journal of antimicrobial agents**, v. 56, n. 3, p. 106103,

2020.

LANA, Raquel Martins et al. Emergência do novo coronavírus (SARS-CoV-2) e o papel de uma vigilância nacional em saúde oportuna e efetiva. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, p. e00019620, 2020.

Li, F., Li, W., Farzan, M. & Harrison, S. C. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. **Science** **309**, 1864–1868 (2005).

Li, Fang. Receptor Recognition Mechanisms of Coronaviruses: a Decade of Structural Studies. **ASM Journals**, v. 89, n. 4, p. 1954 - 1964, 2014. Disponível em: <https://doi.org/doi:10.1128/JVI.02615-14>

LIU, B. et al. Can we use interleukin-6 (IL-6) blockade for coronavirus disease 2019 (COVID-19)-induced cytokine release syndrome (CRS)? **Journal of Autoimmunity**, v 111, Apr 2020, DOI: 10.1016/j.jaut.2020.102452. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32291137>

MA L., Xie W., Li D., Shi L., Mao Y., Xiong Y., Zhang Y. & Zhang M. (2020) Effect of SARS-CoV-2 infection upon male gonadal function: A single center-based study. **MedRxiv**. Available at: <https://www.medrxiv.org/co>. <https://doi.org/10.1101/2020.03.21.20037267>

MARTINS, Jaqueline Dantas Neres et al. "As implicações da COVID-19 no sistema cardiovascular: prognóstico e intercorrências." **Journal of Health & Biological Sciences** **8.1 (2020): 1-9**.

MAO, Ren et al. Manifestations and prognosis of gastrointestinal and liver involvement in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Gastroenterology & Hepatology**, v. 5, n. 7, p. 667-678, jul. 2020. Elsevier BV. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/s2468-1253\(20\)30126-6](http://dx.doi.org/10.1016/s2468-1253(20)30126-6)

MAYORGA TORRES, José Manuel et al. A importância clínica do DNA do esperma na análise seminal diária. **Rev. chil. obstet. ginecol.**, Santiago, v. 80, n. 3, pág. 265-268, junho 2015 Disponível em <[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-75262015000300012&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75262015000300012&lng=es&nrm=iso)>. acessado em 04 jul. 2021. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75262015000300012>.

MEDRADO, Benedito et al. Homens e masculinidades e o novo coronavírus: compartilhando questões de gênero na primeira fase da pandemia. **Ciência & Saúde Coletiva** [online]. v. 26, n. 01 [Acessado 30 Setembro 2022], pp. 179-183. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1413-81232020261.35122020>>. ISSN 1678-4561. <https://doi.org/10.1590/1413-81232020261.35122020>.

MOORE, Keith L. Anatomia orientada para a clínica / Keith L. Moore, Arthur F. Dalley, Anne M. R. Agur ; tradução Cláudia Lúcia Caetano de Araújo. – 8. ed. – Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2019. : il. Tradução de: **Clinically oriented anatomy** – ISBN 978-85-277-3459-2

ROBBA, Chiara et al. Multiple organ dysfunction in SARS-CoV-2: mods-cov-2. **Expert Review Of Respiratory Medicine**, v. 14, n. 9, p. 865-868, 22 jun. 2020. Informa UK Limited. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/17476348.2020.1778470>

RODRIGUES M.E.S. & Dantas B.B. (2022) Influência do SARS-COV-2 no sistema reprodutor humano. **Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza**, 6: e1880. <http://dx.doi.org/10.29215/pecen.v6i0.1880>

RUBENS CARMO COSTA-FILHO et al. Should COVID-19 be branded to viral thrombotic fever?. **Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro**, Vol. 116: e200552, 2021.

RUBENFELD GD. Epidemiology of acute lung injury. **Crit Care Med.** 2003;31(4 Suppl): S276-84.

SAINZ, B. Jr, Rausch, J. M., Gallaher, W. R., Garry, R. F. & Wimley, W. C. Identification and characterization of the putative fusion peptide of the severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus spike protein. **J. Virol.** **79**, 7195–7206 (2005).

SILVEIRA, Zildene de Sousa. Diversidade genômica de cepas de SARS-CoV-2 durante a primeira onda da Covid-19 no Estado de Pernambuco, Brasil. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – **Universidade Federal de Pernambuco**, Recife, 2022.

SONG, C., Wang, Y., Li, W., Hu, B., Chen, G., Xia, P., & Liu, Y. (2020). Detection of 2019 novel coronavirus in semen and testicular biopsy specimen of COVID-19 patients. **MedRxiv**, 2020.03.31.20042333. <https://doi.org/10.1101/2020.03.31.20042333>

Vishvkarma R. & Rajender S. (2020) Could SARS-CoV-2 affect male fertility? **Andrologia**, 52(9): e13712. <https://doi.org/10.1111/and.13712>

WANG, Q., Zhang, Y., Wu, L., Niu, S., Song, C., Zhang, Z.; Qi, J. (2020). Structural and functional basis of SARS-CoV-2 entry by using human ACE2. **Cell**, 181(4), 894–904.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.03.045>

WANG, Z., & Xu, X. (2020). scRNA-seq profiling of human testes reveals the presence of the ACE2 receptor, a target for SARS-CoV-2 infection in spermatogonia, Leydig and Sertoli cells. **Cells**, 9(4), 920. <https://doi.org/10.3390/cells9040920>

YOUNIS J.S., Abassi Z. & Skoreck K. (2020) Is there an impact of the COVID-19 pandemic on male fertility? The ACE2 connection. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, 318(6): E878–E880. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00183.2020>

ZHANG, Y., Geng, X., Tan, Y., Li, Q., Xu, C., Xu, J., Wang, H. (2020). New understanding of the damage of SARS-CoV-2 infection outside the respiratory system. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 127, 110195. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110195>

ZHOU F YU T DU R et al. Clinical course and risk factors for mortality of adults in patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020; 395: 1054-1062.

ZHU N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020; 382(8): 727-33.

# FATORES ASSOCIADOS AOS TRATAMENTOS ESTÉTICOS E A PATOGÊNESE DAS DOENÇAS AUTOIMUNES

## FACTORS ASSOCIATED WITH AESTHETIC TREATMENTS AND PATHOGENESIS OF AUTOIMMUNE DISEASES

Julia Garcia Bozon Verduraz<sup>1</sup>  
Karina de Almeida Gualtieri<sup>2</sup>

200

### RESUMO

A ASIA (Síndrome autoimune induzida por adjuvantes) é uma reação autoimune inflamatória decorrente do uso de adjuvantes. Decorrente da hiperatividade do sistema imunológico, substâncias como silicone, compostos de alumínio, ácido hialurônico(AH) e algumas vacinas são capazes de estimular o sistema imune desenvolvendo a doença. Diante dos inúmeros procedimentos estéticos e a busca por protocolos que minimizem efeitos naturais do envelhecimento, que possam tratar a pele, dentre outras alterações indesejadas são destacados alguns procedimentos que podem levar a essa hiperatividade e estímulo da resposta imunológica do indivíduo, ocasionando a síndrome, todo o curso da fisiopatologia incluindo seus sintomas e resoluções. Para execução deste trabalho foram realizadas buscas, junto às bases em pesquisas SCIELO, PUBMED, LILACS, BIREME, MEDLINE, no período de julho de 2021 a março de 2022, para posterior elaboração de uma revisão bibliográfica de caráter reflexivo. Os critérios de seleção buscaram os descritores combinados: bioativos, doenças autoimunes, estética avançada, fisiopatologia, patogênese e protocolos de tratamento. Objetivando relatar e informar que os procedimentos estéticos, mesmo que apresentem benefícios e vantagens aqui relacionadas, dentre estas psicológicas e físicas, são procedimentos que demandam cuidados, responsabilidade e profissionais aptos a oferecer tratamentos seguros e sem riscos à saúde da população. Assim, diante da globalização e avanços dos tratamentos estéticos além dos padrões epidemiológicos das doenças autoimunes, estas questões, são de extrema relevância em um cenário futuro, inferindo que essas doenças se tornem mais comuns e exigem dos profissionais de saúde conhecimentos consistentes acerca dos fatores que promovam a patogênese desse grupo heterogêneo de doenças.

**Palavras-chaves:** bioativos; doenças autoimunes; fisiopatologia.

<sup>1</sup> Graduanda do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil), Londrina/PR, Brasil. E-mail: julia.verduraz@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Orientadora e Docente Titular do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). Londrina/PR, Brasil. E-mail: karina.gualtieri@unifil.br

## ABSTRACT

ASIA (Adjuvant-Induced Autoimmune Syndrome) is an inflammatory autoimmune reaction resulting from the use of adjuvants. Caused by a hyperactivity of the immune system, substances such as silicone, aluminum compounds, hyaluronic acid and some vaccines are able to stimulate the immune system, developing the disease. Faced with the numerous aesthetic procedures and the search for protocols that minimize the natural effects of aging, that can treat the skin, among other unwanted changes, some procedures that can lead to this hyperactivity and stimulation of the individual's immune response, causing the syndrome, are highlighted. The course of pathophysiology including its symptoms and resolutions. To carry out this work, searches were carried out, along with the SCIELO, PUBMED, LILACS, BIREME, MEDLINE, in the period of July 2021 to March 2022, for further elaboration of a reflective literature review. The selection criteria sought for the combined descriptors: bioactives, autoimmune diseases, advanced aesthetics, pathophysiology, pathogenesis and treatment protocols. Aiming to report and inform that aesthetic procedures, even if they present benefits and advantages listed here, among these psychological and physical, are procedures that demand care, responsibility and professionals able to offer safe treatments and without risks to the health of the population. Thus, in the face of globalization and advances in aesthetic treatments beyond the epidemiological standards of autoimmune diseases, these issues are extremely relevant in a future scenario, inferring that these diseases will become more common and require health professionals to have consistent knowledge about the factors that affect them. promote the pathogenesis of this heterogeneous group of diseases.

**Keywords:** bioactives; autoimmune disease; pathophysiology.

## 1 INTRODUÇÃO

As desordens autoimunes compõem um grupo heterogêneo de doenças, cuja etiologia ainda não é totalmente compreendida, envolvendo a interação de inúmeros fatores que regulam importantes vias moleculares e celulares do organismo e seu sistema imune e que, resultam na falha pelo organismo em sustentar tolerância às suas próprias moléculas (CECCARELI; AGMON-LEVIN; PERRICONE, 2017).

Estudos apontam que as doenças autoimunes afetam cerca de 3% da população mundial, apresentando uma alta incidência, no sexo feminino e, em países desenvolvidos. No curso da doença, geralmente não apresentam manifestações clínicas iniciais, sendo silenciosas e progressivas às lesões celulares e danos teciduais. Fato este, vem motivando e movendo novas pesquisas para técnicas de diagnóstico precoce e controle da doença (COSTA; SILVA-JÚNIOR; PINHEIRO, 2019).

No curso histórico da humanidade, têm sido observada uma preocupação expansiva com a aparência física, promovendo a realização de quaisquer tratamentos que se considerem necessários, sejam estes invasivos ou não, a fim de preservar e restabelecer a aparência, ou ainda rejuvenescer, minimizando alterações teciduais, musculares, ósseas e gordurosas que comprometem estruturas faciais e corporais (AUDINO; SCHMITZ, 2012; BORGES; SCORZA, 2016). Ademais, é perceptível no decorrer dos últimos anos e já comprovado através de índices e dados de pesquisas, que cada vez mais as pessoas buscam na área estética resultados que elevem sua autoestima e seu bem estar. Fato este, refletido pela supervalorização do corpo e uma correlação direta com a automotivação.

De acordo com Ceccareli e seus colaboradores (2016), as desordens autoimunes apresentam incertezas quanto a sua etiologia, mas destacam diversos fatores que incluem variantes como a genética, status hormonal, exposição a xenobióticos, patógenos, variáveis epigenéticas – relação da interação dos fatores genéticos com os fatores ambientais, dieta e estresse.

Compreender neste cenário, a utilização da sigla ASIA - como uma síndrome autoimune/inflamatória induzida por adjuvantes, substâncias que podem estimular uma resposta imunológica, traz ao contexto, o uso indiscriminado de substâncias e uma busca incessante por padrões de beleza tornando-se uma corrida contra o tempo, frente a novas informações, novos produtos, tratamentos estéticos, ou uma nova tendência e estilo, que tem tornado o campo da área estética bastante amplo e exigindo cuidados na formação e qualificação de profissionais, bem como de estudos acerca dos ativos e produtos utilizados, justificando neste trabalho, a relevância dos estudos e maior investigação frente ao estado de saúde dos pacientes, dos tipos de procedimentos, protocolos e tratamentos realizados que possam influenciar no desenvolvimento de patologias ou alterações fisiológicas que tragam prejuízos ao organismo, como no caso da ASIA (CARVALHO, 2010).

Portanto, o estudo visa uma abordagem de tratamentos e protocolos estéticos que utilizam adjuvantes estimulando uma resposta inflamatória/imunológica local e sistêmica no organismo, para remodelagem tecidual, modulações metabólicas, entre outras, mas que em contra-parte inferem o desenvolvimento desta síndrome.

## 2 METODOLOGIA

O desdobramento deste trabalho foi concretizado através de uma revisão de literatura, de cunho descritivo e reflexivo, com base em um rastreamento junto à base de dados Scientific Electronic Library Online (SCIELO), National Library of Medicine National Institutes of Health (PUBMED), Biblioteca Virtual em Saúde: LILACS, BIREME, MEDLINE, utilizando como descritores combinados: bioativos, doenças autoimunes, estética avançada, fisiopatologia, patogênese e protocolos de tratamento. A seleção, identificação e obtenção das informações que compõem este trabalho, foi executada através de 54 artigos consultados, sendo destes, 38 trabalhos incluídos por versarem sobre o tema proposto, apresentar o texto completo, publicados nos idiomas português, inglês, espanhol e francês no período de 2004 à 2022. Os critérios de exclusão foram artigos duplicados, teses, dissertações, monografias e resumos.

## 3 SÍNDROMES AUTOIMUNES

Doenças autoimunes são compreendidas como um grupo de diferentes distúrbios, sem causas completamente conhecidas. Essas desordens são resultado de falhas nos mecanismos de regulação de cada organismo, levando à intolerância do indivíduo a diversas substâncias, sendo elas biológicas ou não. Normalmente, elas são silenciosas e se desenvolvem por muitos anos antes de apresentar sintomas detectáveis. Algumas delas progridem para um dano tecidual que pode levar a destruição dos tecidos acometidos (COSTA; SILVA-JUNIOR; PINHEIRO, 2019).

Estudos apontam que são associados ao desenvolvimento de doenças autoimunes fatores como o comprometimento dos mecanismos imunomoduladores de proteção contra a autoimunidade, mimetização de antígenos de patógenos com moléculas endógenas, modificações de proteínas endógenas ou da expressão gênica por xenobióticos e mutação de genes imunomoduladores adquirida ou herdada (COSTA; SILVA-JÚNIOR; PINHEIRO, 2020).

Também descrito por Barbosa e colaboradores (2021), a doença autoimune é caracterizada quando o organismo deixa de reconhecer o próprio do não próprio, resultando em lesões celulares e danos teciduais. São caracterizadas por multifatores

etiopatogênicos, que se interrelacionam com outros como por exemplo, fatores ambientais, aos quais estão expostos cada indivíduo em seu cotidiano e que podem resultar em inúmeras doenças.

Conforme descrito brevemente, as síndromes autoimunes acometem cerca de 3% de toda a população mundial. Além disso, o mesmo paciente pode apresentar diversas desordens simultâneas, apesar de algumas impedirem o aparecimento e desenvolvimento de outras (BOLON, 2012). A doença pode ser órgão-específica ou sistêmica e é caracterizada pela perda da autotolerância, ou seja, perda da capacidade de distinguir o próprio do não próprio (SOUZA et al., 2010).

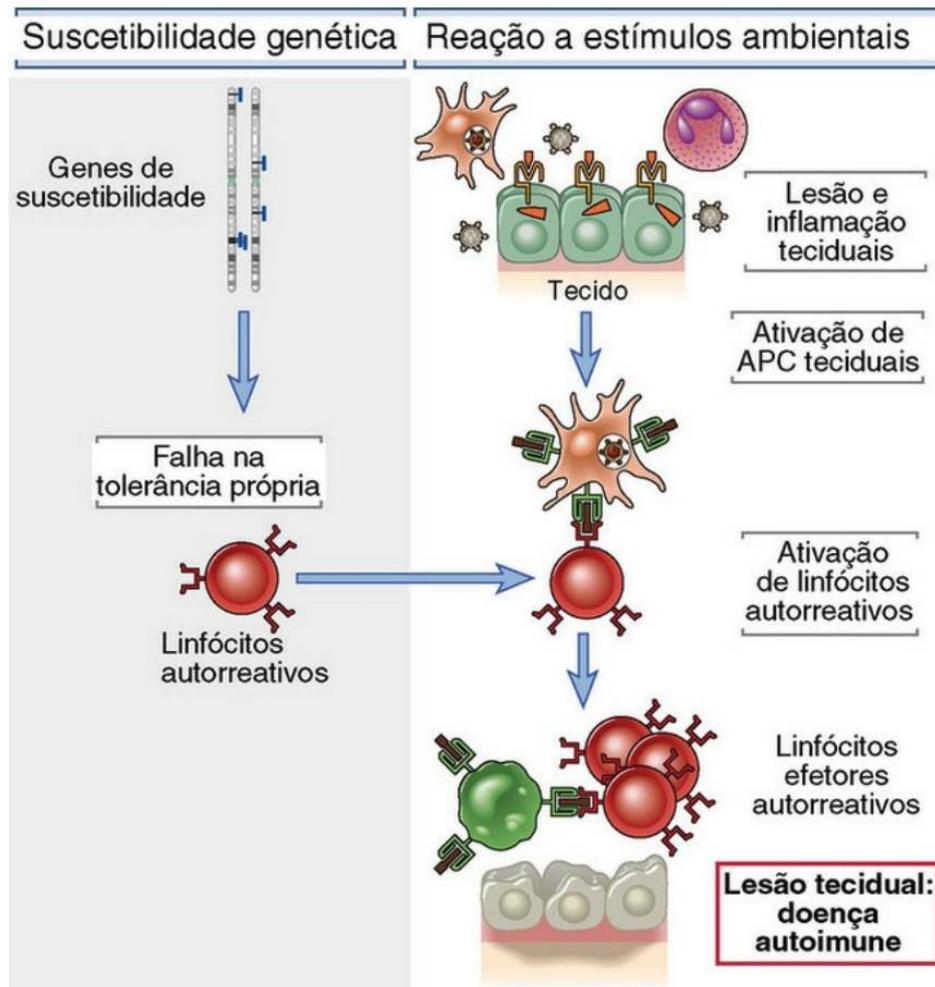
Segundo Tolentino (2017), no Brasil, tanto em âmbito nacional ou regional, existe uma escassez de dados epidemiológicos oficiais referentes à incidência e à prevalência de doenças autoimunes. Isso se dá, devido à inexistência de políticas públicas que reflitam a importância e atenção necessária a esse grupo de doenças, haja vista que essas doenças não são de notificação compulsória, frente ao vasto número de morbidade que compõem outras doenças existentes no país.

Apesar das causas serem provenientes de fatores multigênicos (Figura 1), a perda da autotolerância está relacionada a diversos fatores imunológicos. Percebe-se a falha do funcionamento tanto de células B como de células T, bem como as células T reguladoras (Treg) que apresentam uma capacidade reduzida ou nula de suprimir a ação das células T efetoras contra autoantígenos. Deficiência da vitamina D, desequilíbrio do estresse oxidativo em células de defesa (principalmente TCD4<sup>+</sup> e TCD8<sup>+</sup>) e falha na deleção clonal também são fatores que influenciam seu desenvolvimento (FERREIRA et al., 2021).

Também são associadas a doenças autoimunes mutações pontuais em genes de proteínas presentes na superfície das células, as proteínas que codificam o complexo maior de histocompatibilidade (MHC) e antígeno leucocitário humano (HLA), assim como proteínas reguladoras da produção de citocinas como por exemplo a FOXP3, sendo relatado nos estudos de Ceccareli et al. (2016), assim como outros genes descritos. Ademais, o autor também menciona que mutações ou alterações na proteína MHC de classe II envolvem variantes genéticas e epigenéticas que interferem na sinalização do fator nuclear  $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B) das células B e T e em processos de metilação.

Embora as doenças autoimunes ainda não apresentem tratamento que leve a cura, convertendo todas as alterações geradas pelo não reconhecimento de constituintes próprios e todas as ativações celulares frente a uma resposta imunológica, o uso de fármacos é baseado apenas na redução dos sintomas ou sua modulação, buscando controlar o desequilíbrio da imunidade. Imunossupressores como corticoides são muito eficazes para bloquear a resposta imune indesejada, se ingeridos continuamente. Apesar de não ter cura, os cuidados para a não progressão da doença são eficazes (FERREIRA et al., 2021).

**Figura 1** - Mecanismos postulados de Autoimunidade e Relações com a ASIA.



Fonte: Abbas e Lichtman, (2005).

### 3.1 Adjuvantes Imunológicos

O termo adjuvante, significa ajudar. Esse termo compreende todas as substâncias capazes de intensificar a cascata imunológica, promovendo uma resposta

imune e induzindo uma resposta biologicamente ativa através da modulação do sistema imune (MOTA; LIMA; MELO, 2006).

Adjuvantes imunológicos são substâncias capazes de aumentar a resposta imune específica e auxiliar o antígeno a desencadear uma resposta imune precoce, elevada e duradoura. Nos últimos anos, os adjuvantes receberam muita atenção, devido ao desenvolvimento de vacinas sintéticas e purificadas, entre as mais diversas substâncias e compostos utilizados na área estética (MOTA; LIMA; MELO, 2006). Esses compostos, assim denominados adjuvantes imunológicos, são capazes de estimular o sistema imune, prolongando, aumentando e até acelerando uma resposta imune, sem causar efeitos antigênicos, ou seja, aumentando a qualidade da resposta (CARVALHO, 2010).

Eles podem atuar liberando, gradualmente, os antígenos, transportando-os até os linfonodos e liberando citocinas inflamatórias no local da infecção. Dessa forma, o aglutinogêneo fica mais tempo exposto, permitindo uma produção elevada de células T, além do recrutamento das citocinas inflamatórias para o local afetado (MIYAJI et al., 2011).

Nesse contexto, são destacados como alguns adjuvantes: o alumínio, o silicone, as vacinas e o ácido hialurônico. Por anos, essas substâncias foram consideradas seguras, apresentando, praticamente, nenhum risco à saúde de qualquer ser vivo. No entanto, um estudo realizado (ISRAELI et al., 2009) relata que eles são capazes de desencadear uma inflamação anormal e até mesmo levar a quadros de doenças autoimunes em pessoas geneticamente predispostas a tais patologias. Além de evidenciar que o uso de mais de um adjuvante simultaneamente aumenta esse risco por ultrapassar barreiras genéticas de resistência.

Essas doenças causadas por adjuvantes foram enquadradas em uma só síndrome chamada ASIA (síndrome autoimune/inflamatória induzida por adjuvantes) ou Síndrome de Schoenfeld. Há relatos de doenças autoimunes que também são causadas por substâncias específicas mas não são caracterizadas como ASIA, pois não atendem aos critérios pré-dispostos, como por exemplo, no caso de pacientes em tratamento contra um câncer de cólon que podem apresentar anemia hemolítica autoimune induzida pelo uso de oxaliplatina (RUSSO, 2012).

A Síndrome de Schoenfeld engloba algumas doenças como a Síndrome da

Guerra do Golfo (SGG), Miofascite Macrofágica (HILÁRIO, 2019), que é associada ao uso de vacinas contendo hidróxido de alumínio (contra Hepatite A, B, tétano e a Coronavac, utilizada contra o Covid-19), fenômenos adversos pós-vacinais e siliconoses que serão abordados.

### 3.2 Síndrome Autoimune/Inflamatória Induzida por Adjuvantes (ASIA)

A síndrome de ASIA foi descrita por Shoenfeld e Agmond-Levin (2011) e envolve doenças que se assemelham em relação a sinais, sintomas e tenham um fator causador comum, nesse caso, os adjuvantes. Para que as doenças possam ser enquadradas nessa síndrome, Shoenfeld elaborou critérios que podem ser divididos e classificados em maior e menor, conforme a tabela 1, e para que o diagnóstico seja verdadeiro, é necessário que o paciente apresente pelo menos duas manifestações do tipo maior ou uma manifestação do tipo maior associadas a duas manifestações do tipo menor (CARVALHO et al., 2011).

**Tabela 1 - Critérios Padronizados para o diagnóstico da ASIA.**

<b>Critérios Maiores</b>	<b>Critérios Menores</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Exposição a estímulos externos (adjuvantes) antes das manifestações</li> <li>● Mialgia</li> <li>● Artralgia</li> <li>● Fadiga crônica</li> <li>● Distúrbios do sono</li> <li>● Manifestações neurológicas (desmielinização)</li> <li>● Febre</li> <li>● Boca seca</li> <li>● Se a remoção do agente induzir melhoras</li> <li>● Biópsia dos órgãos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Autoanticorpos contra o agente em questão</li> <li>● Outras manifestações clínicas não específicas</li> <li>● HLAs específicos</li> <li>● Surgimento de doenças autoimunes</li> </ul>

**Fonte:** Carvalho (2010).

Pacientes com a síndrome podem apresentar uma fadiga crônica irreparável, problemas cognitivos como perda de memória e falta de atenção, distúrbios do sono,

rigidez matinal, mialgias e artralguas - que podem ser confundidas com uma artrite reumatóide, suores noturnos e mucosas secas. Alergias com sintomas de rinites e sinusites também aparecem. Mesmo sem muita especificidade, alguns exames podem ser feitos para o diagnóstico da doença, como a pesquisa por anticorpos e um exame de vitamina D, porém os sintomas que irão confirmar o episódio (TERVAERT, 2018).

A ASIA engloba um grupo de doenças imunomediadas relacionadas, que se desenvolvem entre indivíduos geneticamente propensos como resultado da exposição ao agente adjuvante. Dentro desse grupo estão incluídas 4 doenças: siliconose, síndrome da Guerra do Golfo, miofascite macrofágica e fenômenos adversos pós-vacinais. Esse assunto tem ganhado notoriedade em função do extenso número de mulheres com próteses de silicone e que sofrem com suas consequências. De acordo com os estudos, adjuvantes induzem a autoimunidade através de padrões moleculares associados a patógenos, contribuindo em alguns pacientes com a hiperatividade de resposta imunológica, gerando reações adversas como inflamações, aumento da produção de quimiocinas e estímulo de células atuantes na resposta imune (SOARES, 2021).

Segundo Watad et al. (2018) de 105 pacientes testados, apresentando ASIA, a maioria havia sido diagnosticado erroneamente com outras doenças autoimunes, como a doença do tecido conjuntivo indiferenciada (DTCI). Destes pacientes, 40 deles apresentavam produtos cosméticos como principais adjuvantes causadores da doença, e em 18, o agente principal era o silicone.

Além disso, a interação com os receptores do complexo principal de histocompatibilidade (HLA) e sinais coestimulatórios favorecem a produção de anticorpos, contribuindo com o dano tecidual e à modificação das próprias proteínas, exposição de epítomos e a ativação subsequente de linfócitos auto-reativos, desencadeando uma doença autoimune (SOARES, 2021).

### 3.2.1 Síndrome Autoimune Induzida por Ácido Hialurônico

O ácido hialurônico é um polissacarídeo encontrado na matriz extracelular e pericelular, está presente no humor vítreo do olho humano e no líquido sinovial, mas sua maior prevalência está na pele. Esse ácido é muito importante para lubrificação,

hidratação e manutenção tecidual, além de participar da produção de vasos sanguíneos, proliferação e migração celular (PAN et al., 2013).

Devido às suas propriedades, o AH tem sido muito produzido e utilizado pela indústria cosmética, já que a perda deste é a maior causa de ressecamento e perda de elasticidade ao longo dos anos. Segundo estudo (SANTONI, 2018), a aplicação tópica de AH é um dos tratamentos mais eficazes contra a desidratação e envelhecimento cutâneo.

A injeção de ácido hialurônico, quando usado corretamente, dificilmente acarreta efeitos adversos já que ele se decompõe quando entra em contato com a enzima hialuronidase, ou seja, o profissional pode desfazer o procedimento caso algo de errado venha a acontecer (SORRENTINO et al., 2020).

Contudo, em alguns casos, principalmente quando o paciente apresenta uma predisposição genética para doenças reumáticas, o AH pode ser prejudicial, com a capacidade de provocar infartos vasculares - podendo levar a cegueira e necrose tecidual, reações alérgicas (hipersensibilidade imediata), infecções agudas, podendo até evoluir para o aparecimento de nódulos, granulomas e até a produção de anticorpos contra o produto (Figura 2). Se o paciente já apresentava uma doença autoimune, uma desestabilização e piora do quadro da doença pode ocorrer (SIGNORINI et al., 2016).

**Figura 2** - Reação inflamatória após injeção de Ácido Hialurônico.



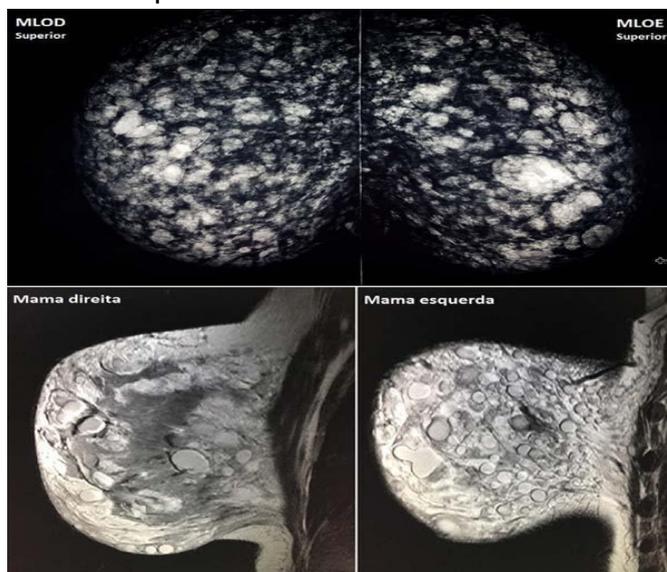
**Fonte:** Veloso et al. (2019).

### 3.2.2 Siliconose

O implante de silicone é outro procedimento estético bastante realizado no mundo inteiro e um dos mais antigos existentes. Depois de alguns anos de uso, verificou-se a aparição de doenças do tecido conjuntivo em pacientes que haviam feito o procedimento. Essas doenças possuem sintomas inespecíficos como mialgia, fadiga, depressão, olhos e boca secos, problemas cutâneos, febre e assim foram chamadas de siliconoses (LIBARDI et al., 2020).

Os chamados IMS (implantes mamários de silicone) contém em sua composição um polímero chamado polidimetilsiloxano (PMDS) (MATIAS et al., 2021). Com o envelhecimento do implante, esse polímero pode se difundir para os tecidos adjacentes e até mesmo para os gânglios linfáticos, resultando numa resposta inflamatória local que pode evoluir para nódulos (Figura 3), tumores e doenças autoimunes sistêmicas, por causa da produção de espécies reativas do oxigênio, monóxido de nitrogênio e citocinas pró-inflamatórias (NALLET et al., 2021).

**Figura 3** - Ressonância de mama evidenciando nódulos difusos bilateralmente, associados ao implante de silicone.



Fonte: Meira; Lisboa; Moraes, (2019).

Isso ocorre pois a saída do silicone através da capa protetora aumenta a inflamação pericapsular, levando a reações alérgicas e provoca uma reação imune. Além disso, as células T que se encontram em torno do implante sintetizam interleucinas e fatores de crescimento que contribuem para uma inflamação crônica.

Em pacientes normais, esse processo acarreta em contratura capsular, porém em pacientes que apresentam uma predisposição, a inflamação pode levar a doenças autoimunes específicas (ONAGA et al., 2020).

Quando as bactérias presentes no tecido mamário (*Staphylococcus epidermidis*) entram em contato com o silicone, há a formação de um biofilme, resultando em uma cápsula que envolve a prótese como uma reação normal do corpo contra um agente exógeno. Estudos apontam que os biofilmes inibem a ação de células T reguladoras, estimulando os anticorpos presentes no organismo a iniciarem uma resposta contra o antígeno presente no implante (MATIAS et al., 2021).

Felizmente, na maioria dos casos, a remoção do IMS resolve grande parte dos sintomas característicos da síndrome, mas como esperado, a não remoção acarreta pioras clínicas. A não resolução dos sintomas após a retirada do implante é explicada pela não remoção da cápsula formada pelo biofilme das bactérias, que pode ainda conter silicone, não evoluindo para uma melhora clínica (RIBEIRO, 2013).

### **3.3 Imunogenicidade para Toxina Botulínica Tipo A (TxB-A)**

#### **3.3.1 Toxina Botulínica**

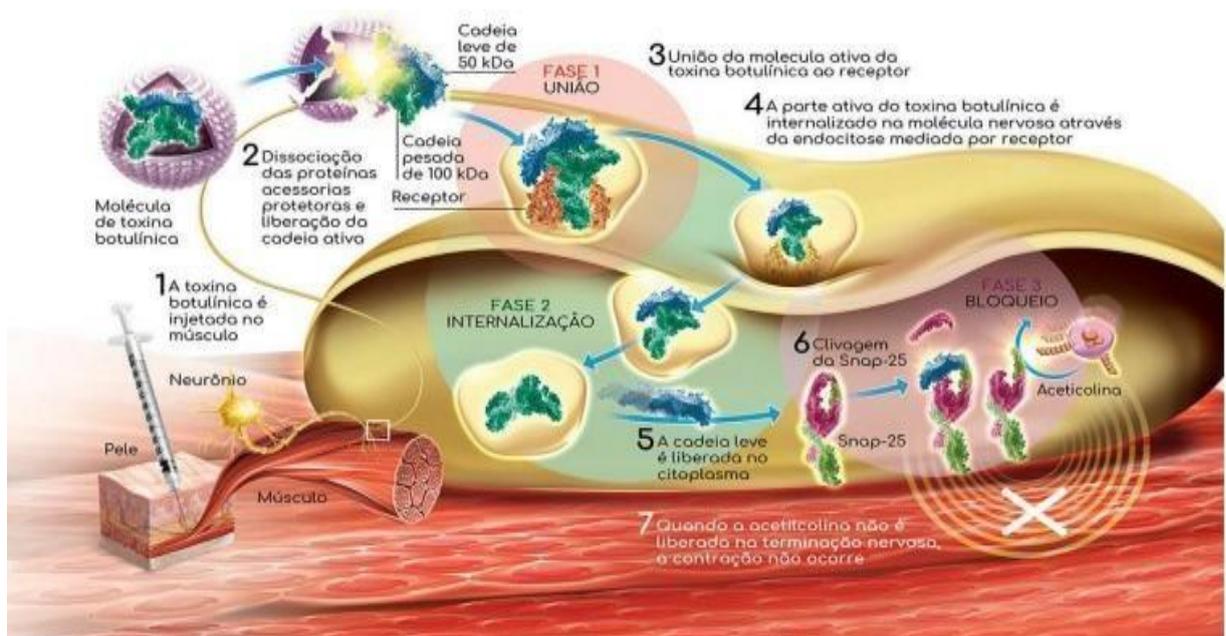
A toxina botulínica (BoNt ou TxB) é uma neurotoxina produzida pela bactéria *Clostridium botulinum*. Atualmente, sabe-se que a bactéria produz 7 diferentes sorotipos de neurotoxina (A, B, C, D, E, F e G). Sendo consideradas as neurotoxinas mais potentes conhecidas, somente o sorotipo A e B, que já são utilizados clinicamente. A toxina botulínica A (TxBA) é a precursora dos procedimentos estéticos minimamente invasivos contra o envelhecimento, sendo até hoje o mais utilizado no Brasil (CRISTO, 2020).

Mesmo que seja muito utilizada na área estética, a substância também apresenta muitas funções terapêuticas. Primeiramente, ela era utilizada para doenças neurológicas que causavam distonias (contrações involuntárias da musculatura), como o estrabismo, blefaroespasma, espasmo hemifacial, espasticidade e distonia cervical. Entretanto, estudos recentes verificaram que a toxina tem um efeito positivo contra a hiperidrose (sudorese excessiva), aliviando dores causadas por contrações musculares, como a enxaqueca crônica, tratamentos para bruxismo, rosácea e até mesmo auxiliando no tratamento contra males da bexiga (METELO, 2014).

### 3.3.2 Mecanismo de ação

A injeção da TxBa é intramuscular e para cada objetivo deve ser utilizada conforme prescrição terapêutica, doses e diluições específicas. Ela atua nas sinapses nervosas, inibindo a liberação de acetilcolina (Figura 4). Essa inibição leva a uma paralisia parcial focal, ou seja, somente do músculo em que foi injetada, mas não prejudica a condução neural de sinais elétricos. O efeito do procedimento começa a ser percebido, geralmente, a partir do terceiro dia após a técnica e dura cerca de 3 a 4 meses (podendo se estender por até 6 meses). A aplicação de forma incorreta pode levar a diversos efeitos adversos, como hematomas, cefaleia, ptose palpebral, paralisia de músculos indesejados, perda de expressão e até a produção de anticorpos (REIS, 2020).

**Figura 4 - Mecanismo de ação da TxBa.**



Fonte: Flávio (2018).

### 3.3.3 Imunogenicidade

A imunogenicidade é caracterizada pela produção de anticorpos que diminuem os efeitos da substância no organismo por diversos fatores. No organismo humano, como qualquer substância estranha, a TxBa atua como imunógeno, apresentando a possibilidade de gerar uma resposta imune. A formação de anticorpos neutralizantes

contra a toxina foi verificada em pacientes que injetaram altas doses com intervalos curtos entre elas, o que é explicado pela capacidade de memória do nosso sistema imunológico (SPOSITO, 2004).

Apesar de possível, a produção desses anticorpos é rara e a resposta pode ser primária - quando ocorre inicialmente, logo após o procedimento - ou secundária - desenvolvida tempos depois. Além da administração de altas doses, mudanças na formulação do produto também estão relacionadas à resposta imune. Além de doses de reforço e exposição prévia ao composto (ALMEIDA, 2019).

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Fica evidente, através do estudo realizado, que a Síndrome de ASIA representa uma complicação, ainda com seu mecanismo fisiopatológico incerto, mas que predispõe os indivíduos com susceptibilidade genética ao seu desenvolvimento ou em casos menos graves, levam a reações de hipersensibilidade imediata.

Ademais, frente à atual situação pela busca constante de padrões midiáticos e que visem o “corpo perfeito” ou ideal para os padrões, buscando única e exclusivamente a estética, sem maiores preocupações com o estado de saúde e possíveis complicações, o presente estudo corrobora para que as informações sobre os efeitos adversos de procedimentos estéticos alcancem o público alvo e que estes tenham cada vez mais conhecimento acerca do assunto, como também, alcance profissionais da saúde que necessitam do entendimento, aperfeiçoamento de protocolos e até mesmo, melhorem a comunicação, procurando sempre uma melhor qualidade de vida a pacientes, bem como profissionais qualificados no ramo da saúde.

Sendo tais informações relevantes devido ao fato de a globalização além de influenciar nos fatores acima citados, também exercer efeitos sobre os padrões epidemiológicos das doenças tanto transmissíveis quanto as não transmissíveis e conseqüentemente nos fluxos de trabalho e ações dos sistemas e serviços de saúde, se tornando estas questões, extremamente importantes em um cenário no qual essas doenças se tornem mais comuns e exijam dos profissionais de saúde conhecimentos consistentes acerca dos fatores que promovam a patogênese desse grupo heterogêneo de doenças, para que possam desenvolver medidas preventivas e estratégicas para a elaboração de tratamento e planos de cuidado.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. *Imunologia Celular e Molecular*. **Saunders Elsevier**, Rio de Janeiro, 2005.

ALMEIDA, B. L. R. *Toxina Botulínica: Revisão dos Aspectos Gerais e das Evidências do seu Efeito Analgésico Direto*. **Acervo Digital Universidade Federal do Paraná**, Curitiba, 2019.

AUDINO, Maira C.F.; SCHMITZ, Andréia. **Cirurgia plástica e envelhecimento**. RBCEH, Passo Fundo, v. 9, Supl. 1, p. 21-26, 2012.

BARBOSA, M.G.A.; GENUINO, P.A.; SILVA, E.I.; SANTOS, S.M.; LINS, S.R.O. Prevalência de casos de doenças autoimunes e imunodeficiências primárias registradas em hospitais no Agreste de Pernambuco. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, e50410212681, 2021.

BOLON B. *Cellular and Molecular Mechanisms of Autoimmune Disease*. **Sage Journals Toxicologic Pathology**, [S.L], v. 40, n.2, p. 216-229, 2012.

BORGES, F. dos S.; SCORZA, F. A. **Terapêutica em estética: conceitos e técnicas**. 1. Ed. São Paulo: Phorte, 2016.

CARVALHO, J. F. ASIA ou Shoenfeld: Uma Nova Síndrome Autoimune?. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 50, n. 5, p. 487-491, 2010.

CARVALHO, J. F.; BARROS, S. M.; BRANCO, J. C.; FONSECA, J. E.. Asia or Shoenfeld's Syndrome: Highlighting Different Perspectives for Diffuse Chronic Pain. **Acta reumatologica portuguesa**, [S.L], v. 36, n. 1, p. 10-12, 2011.

CECCARELI F.; AGMON-LEVIN N.; PERRICONE C. Genetic Factors of Autoimmune Diseases 2017. **Journal of Immunology Research**, [S.L], 2017.

COSTA, A. L. P.; SILVA-JÚNIOR, A. C. S.; PINHEIRO, A. L. Fatores Associados à Etiologia e Patogênese das Doenças Autoimunes. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, Florianópolis, v. 48, n. 2, p. 92–106, 2019.

CRISTO, J. Fator de Imunogenicidade da Toxina Botulínica A: Uma Revisão de Literatura. **Faculdade Sete Lagoas - Facste**, São Paulo, 2020.

FERREIRA, J. et al. O Sistema Imunológico e a Autoimunidade. **Revista Científica do UBM**, Barra Mansa, v. 20, n. 39, p. 40-58, 2021.

HILÁRIO, M. J. S. Miofasceíte Macrofágica: Um Diagnóstico Diferencial de Fibromialgia. **Universidade da Beira Interior**, Covilhã, 2019.

ISRAELI, E. et al. Adjuvants and autoimmunity. **Lupus**, [S.L], v. 18, n. 13, p. 1217122, 2009.

LIBARDI, C. S. et al. Caso de ASIA Após Injeção de Silicone Líquido. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, [S.L], v. 95, n. 4, p. 542-544, 2020.

MATIAS, I. S. et al. Implante Mamário de Silicone e Síndrome ASIA: uma Revisão de Literatura. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 7, p. 67035-67048, 2021.

MEIRA, A. A. M.; LISBOA, C. A.; MORAES, T. P. Abordagem Reconstrutora Após Injeção de Silicone Líquido Industrial nas Mamas. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**, São Paulo, v. 34, p. 62-64, 2019.

METELO, C. S. Aplicações Terapêuticas da Toxina Botulínica. **Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz**, Almada, 2014.

MIYAJI, E. N. et al. Trends in adjuvant development for vaccines: DAMPs and PAMPs as Potential New Adjuvants. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Brasil, v. 44, n. 6, p. 500-513, 2011.

MOTA, E. F; LIMA, M. DA G. S.; DE MELO, D. F. Adjuvantes Imunológicos: Avanços e Perspectivas. **Ciência Animal**, Fortaleza, v. 16, n. 2, p. 79-88, 2006.

NALLET. A. et al. Quand la Chirurgie Esthétique se Complique. **La Revue de Médecine Intern**, [S.L], v. 21, n. 1, p. A173, 2021.

ONAGA, G. N. et al. Síndrome ASIA e sua Relação com Implantes Mamários de Silicone. **Centro Universitário São Camilo**, São Paulo, 2020.

PAN, N. C. et al. Hyaluronic Acid: Characteristics, Microbial Production and Industrial Applications. **BBR- Biochemistry and Biotechnology Reports**, Londrina, v. 2, n. 4, p. 42-58, 2013.

REIS, L. C. et al. Desvendando o Uso da Toxina Botulínica na Estética e em Enfermidades. **Revista Saúde em Foco**, São Lourenço, n. 12, p. 413-437, 2020.

RIBEIRO, D. A. M. Síndrome autoimune/ Autoinflamatório Induzido por Adjuvante- Síndrome ASIA ou de Shöenfeld. **Universidade do Porto- Instituto de Ciências Abel Salazar**, Porto, 2013.

RUSSO, D. T. Anemia Hemolítica Induzida por Oxaliplatina Durante Tratamento de Adjuvante de uma Paciente com Câncer de Cólon- um Relato de Caso com boa Evolução. **Biblioteca Virtual em Saúde**, São Paulo, p. 19, 2012.

SANTONI, M. T. S. Uso de Ácido Hialurônico na Estética Facial: uma Revisão da Literatura. **Unijuí – Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul**, Ijuí, 2018.

SIGNORINI, M. et al. Global Aesthetics Consensus: Avoidance and Management of Complications from Hyaluronic Acid Fillers-Evidence- and Opinion-Based Review and Consensus Recommendations. **Plastic and reconstructive surgery**, [S.L], v. 137, n. 6, p. 961e–971e, 2016.

SOARES, G. S.; DE FARIA, T. G. Relação da Síndrome Autoimune Induzida por adjuvantes (ASIA) com o implante mamário. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, [S.L] v. 2, n. 2, p. 8, 2021.

SORRENTINO, L. et al. Síndrome Autoimune Inducido por Inyección Cosmética de Ácido Hialurónico. **Revista Argentina de Reumatología**, Argentina, v. 31, n. 4, p. 40-43, 2020.

SOUZA, A. W. S. et al. Sistema Imunitário: Parte III. O Delicado Equilíbrio do Sistema Imunológico Entre os Polos de Tolerância e Autoimunidade. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 50, n. 6, p. 665-694, 2010.

SPEROTTO, M. G.; OLIVEIRA, I. D. P. Implantes Mamários na Síndrome Autoimune/Inflamatória induzida por adjuvantes (ASIA): Uma Revisão Bibliográfica. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, [S.L], v. 2, n. 2, p. 34, 2021.

SPOSITO, M. M. M. Toxina Botulínica Tipo A: Propriedades Farmacológicas e Uso Clínico. **Acta Fisiátrica**, São Paulo, v. 11, 2004.

TERVAERT, J. W. C. Autoinflammatory/Autoimmunity Syndrome Induced by Adjuvants (ASIA;Schoenfeld's Syndrome): a New Flame. **Autoimmunity Reviews**, [S.L], v. 17, n. 12, p. 1259-1264, 2018.

TOLENTINO JR., D. S. Estudo da prevalência de doenças autoimunes na microrregião de saúde de Águas Formosas-Minas Gerais-Brasil. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, 2017.

VELOSO, A. R. et al. Celulite em Rosto Após Preenchimento com Ácido Hialurônico. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**, [S.L], v. 34, p. 1-3, 2019.

WATED A. et al. The Autoimmune/Inflammatory Syndrome Induced By Adjuvants (ASIA)/Schoenfeld's Syndrome: Descriptive Analysis of 300 Patient From the International ASIA Syndrome Registry. **Clinical Rheumatology**, [S.L], v. 37, p. 483493, 2018.

ZAAHUR M.; ASIF A.R. Clinical, Cellular and Molecular Biology of autoimmune Disorders. **Journal of Clinical and Cellular Immunology**, Alemanha, v. 4, 2013.

# OZONIOTERAPIA COMO TERAPIA INTEGRATIVA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

## OZONE THERAPY AS AN INTEGRATING THERAPEUTIC: A SYSTEMATIC REVIEW

Lucca Di Benedetto Cardozo<sup>1</sup>  
Karina de Almeida Gualtieri<sup>2</sup>

### RESUMO

O ozônio tem sido utilizado com bons resultados no tratamento de diversas enfermidades. Reconhecida no Brasil, desde 2018, a ozonioterapia está no rol de modalidades de tratamento incluídas na rede privada e já implementada pela Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), no Sistema Único de Saúde (SUS) como forma de terapia alternativa e complementar de doenças, que se estendem de simples feridas, a casos mais graves como processos inflamatórios agudos e crônicos em certas doenças, como por exemplo, o pé diabético, doenças virais entre muitas outras. Assim, objetivando identificar e analisar as evidências científicas dos estudos publicados sobre o uso de Ozonioterapia como terapia integrativa, foi realizada uma revisão integrativa da literatura junto às bases de dados LILACS, MPUBMED/MEDLINE, e (SciELO) no período de 2000 a 2022, utilizando como descritores combinados: ozonioterapia, tratamento ou terapia integrativa entre outros. O ozônio produz benefícios clinicamente relevantes que apoiam o seu uso paralelo aos tratamentos convencionais buscando acelerar processos cicatriciais, reduzir danos e lesões teciduais, bem como melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Entretanto, sua aplicação e dosagem devem ser consideradas conforme a doença e quadro em questão, além de ser executada por profissionais devidamente habilitados e capacitados para que se evitem intercorrências e malefícios pelo seu uso indiscriminado. Porém, há a necessidade de futuros estudos para elucidar e padronizar a questão das concentrações que devem ser utilizadas, sua frequência de aplicação, e tempo de tratamento.

**Palavras-chaves:** benefícios de tratamento; ozonioterapia; protocolos de aplicação; terapia integrativa.

### ABSTRACT

The ozone has been used and got good results on the treatment of various pathologies. Recognized in Brazil, from the National Policy on Integrative and Complementary Practices, from the National Policy on Integrative and Complementary Practices. in the Unified Health System (SUS) as a form of alternative and complementary therapy for diseases, which range from simple wounds to more serious cases such as acute and

<sup>1</sup> Graduando do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil), Londrina/PR, Brasil. E-mail: luccabc20@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Orientadora e Docente Titular do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). Londrina/PR, Brasil. E-mail: karina.gualtieri@unifil.br

chronic inflammatory processes in certain diseases, such as diabetic foot, viral diseases among many others. Thus, in order to identify and analyze the scientific evidence of published studies on the use of ozone therapy as an integrative therapy, an integrative literature review was carried out with the Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (PUBMED/MEDLINE), Web of Science and the Virtual Health Libraries and Scientific Electronic Library Online (SciELO), from 2000 to 2022, using as combined descriptors: ozone therapy, treatment or integrative therapy between others. Ozone produces clinically relevant benefits that support its use alongside conventional treatments seeking to accelerate healing processes, reduce tissue damage and injury, as well as improve patients' quality of life. However, its application and dosage must be considered according to the disease and condition in question, in addition to being performed by properly qualified and trained professionals to avoid complications and harm caused by its indiscriminate use. However, there is a need for future studies to elucidate and standardize the issue of concentrations that should be used, their frequency of application, and treatment time.

**Keywords:** treatment benefits; ozone therapy; application protocols; integrative therapy.

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente tem sido observado uma crescente busca por terapias e tratamentos alternativos que melhorem resultados clínicos e corroboram com os dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), inferindo que cada vez mais a população recorre às medicinas alternativas e complementares e destes, grande parte, além de a usarem regularmente, dizem preferir cuidados de saúde que integrem os referidos métodos (OMS, 2019).

No Brasil, a implementação das chamadas práticas integrativas trouxe 10 novos tipos de práticas associadas, incorporando a lista de tratamentos disponíveis, a ozonioterapia, entre outras, por exemplo, a aromaterapia e terapia com florais, a bioenergética e constelação familiar, que visam o equilíbrio físico e mental (BRASIL, 2018). Sendo amplamente aplicadas como forma complementar aos tratamentos convencionais.

Dentre as técnicas complementares destaca-se a ozonioterapia. Um método que utiliza a mistura entre ozônio e oxigênio trazendo melhora e efetividade para distintos tratamentos. Ademais, a ozonioterapia tem propriedades antioxidantes e antiinflamatórias (VALDENASSI, 2016) e existem evidências da sua efetividade no

tratamento de algumas doenças (MUTO, 2016).

O ozônio é uma molécula composta por três átomos de oxigênio. A molécula apresenta uma estrutura instável que a torna um potente oxidante que pode ser administrado em doses terapêuticas precisas. Alguns autores têm alegado que a prática traz benefícios em uma variedade de condições caracterizadas por hipóxia e síndromes isquêmicas (PACHECO et al., 2019).

A ozonioterapia teve início na Alemanha e na União Soviética na primeira guerra mundial, disseminando sua técnica pela Europa, China e América, porém apenas em alguns países a técnica é legalizada. As publicações sobre seu uso ainda são limitadas (ANZOLIN; BERTOL, 2018), mas o potencial da ozonioterapia tem apresentado bons resultados.

Embora à eficácia de técnicas terapêuticas alternativas ainda sejam questionadas no cenário médico, estudos demonstram que práticas como a ozonioterapia, quando associada aos tratamentos convencionais pode proporcionar melhoras na qualidade geral do tratamento, assim como, no bem-estar do paciente. Fato que traz cada vez mais a procura por profissionais devidamente habilitados e qualificados para o uso de práticas integrativas, ora denominadas terapias alternativas ou complementares, que são cada vez mais aceitas, visto os benefícios acrescentados junto aos tratamentos ortodoxos (SANTOS; CIDRAL FILHO, 2012).

Diante do exposto, esse trabalho justifica-se pela importância de propiciar o uso da ozonioterapia como alternativa complementar aos tratamentos convencionais, visto que, trazem melhora significativa frente à cicatrização de feridas, aceleram o processo de reposição celular e renovação de tecidos, em especial nas queimaduras, para tratamento de pacientes com diabetes e várias outras doenças que podem apresentar resistência clínica ou não se mostrarem responsivas aos tratamentos convencionais. Salienta-se aqui, a relevância na formação e orientação de profissionais da saúde acerca desta área de atuação e frente às suas intervenções com base na melhora da doença, viabilizando deste modo a inclusão de uma nova prática clínica, no que se refere aos diferentes tratamentos inclusos nas terapias integrativas, permitindo assim, um eixo paralelo para o equilíbrio e a melhora do paciente (BRASIL, 2018).

Assim, objetivando reunir informações sobre a ozonioterapia frente às finalidades clínicas já descritas, o artigo visa apresentar as vantagens em relação ao

tratamento convencional, indicações de aplicação, assim como as suas restrições de uso.

## 2 METODOLOGIA

Este artigo é uma revisão integrativa baseada em trabalhos publicados sobre o ozônio e seu uso empregado, vias de administração frente a ozonioterapia, seja em estudos experimentais, em aplicações clínicas e relatos de caso, mecanismo(s) de ação, efeitos adversos, possíveis limitações do uso entre outros tópicos relevantes. Foram pesquisados artigos entre os anos de 2000 e 2022, através dos portais: Scielo, Pubmed, Lilacs, MedLine e Google Acadêmico, em português, espanhol e inglês. Os descritores combinados foram: ozônio, ozonioterapia, cicatrização, terapias integrativas, tratamentos. Sendo os critérios de exclusão: estudos que não corresponderam aos critérios citados e trabalhos cujas informações não complementam os já selecionados.

220

## 3 OZONIOTERAPIA

As buscas por novas substâncias que auxiliem na terapêutica e que não gerem danos teciduais, são constantes, o que levou a utilização da ozonioterapia pela área médica, como forma auxiliar no tratamento de várias doenças crônicas e agudas (PAIXÃO et al., 2021).

A história do ozônio (O<sub>3</sub>) está atrelada ao químico alemão Christian Friedrich Schönbein (1799-1868), a partir de quando tiveram início os estudos e a criação de um aparelho para produção de ozônio através de descargas elétricas sobre os átomos de oxigênio, conhecido como gerador de alta frequência, em 1857. Em 1914 surgiram as primeiras aplicações do O<sub>3</sub> para fins terapêuticos, em soldados com gangrena, abscessos e fraturas, de forma bem sucedida. Em 1975 seu uso terapêutico foi introduzido no Brasil (FERREIRA et al., 2013).

Em 2018, através da portaria 702 do Ministério da Saúde, a ozonioterapia foi regulamentada como prática integrativa, para os pacientes do SUS em algumas situações muito específicas e sob caráter experimental e alternativo. Como vantagens, são registradas reduções importantes no tempo de recuperação, maior efetividade e

maior adesão do paciente, aliado ainda ao menor custo total do tratamento (FERREIRA, 2018). Destacando aqui, que no Brasil a ozonioterapia está inserida na

Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) do SUS, pela Portaria nº 702/2018 do Ministério da Saúde.

Estudos mostram que a ozonioterapia tem indicações em diversas patologias humanas, salientando as oncológicas, gerontológicas, dermatológicas, odontológicas e ainda veterinárias. Isoladamente ou como coadjuvante, vem sendo destacada para as doenças infecciosas agudas e crônicas, tratamentos estéticos, queimaduras de primeiro e segundo grau, psoríase, herpes-zoster e no tratamento de feridas de difícil cicatrização, como o pé diabético (AGUIAR et al., 2016).

No Brasil, a ozonioterapia teve seu início em 1975, mas apenas em 2006 foi fundada a Associação Brasileira de Ozonioterapia (ABOZ), com o intuito de que o método fosse aceito de forma legal e responsável (MORAIS; OLIVEIRA; SOARES, 2008). Em 2017 houve a aprovação do senado para a regulamentação da ozonioterapia.

As formas de utilização da ozonioterapia são grandes, sendo seu mecanismo de ação relacionado a procedimentos minimamente invasivos e efetivos, além de ser biológico e sem sintomatologia (NOGALES et al., 2016).

Os defensores da técnica usavam vários benefícios como tratamento complementar, por exemplo: a redução do aparecimento de diversas doenças, aumento da qualidade de vida, redução de custos para o tratamento de doenças crônicas, redução da quantidade de procedimentos complexos com equipamentos de alto custo, redução no gasto em medicamentos de alto custo e redução na quantidade de pessoas internadas, assim como efeitos colaterais da quimioterapia. A ABOZ (2016) afirma que a ozonioterapia está sendo utilizada em várias doenças de forma isolada ou complementar e com resultados satisfatórios.

Ademais, a ozonioterapia também traz benefícios por sua capacidade de regular o sistema imunológico, como em casos de câncer, HIV e outras doenças mais severas, bem como suprimir o sistema imunológico de pessoas com doenças autoimunes. Aumenta o aporte de oxigênio nas células devido à melhora da circulação (CANDIDO, 2001; MACEDO; CARDOSO, 2005).

### 3.1 Ozônio

O ozônio pode ser definido como um composto alotrópico do oxigênio, ou seja, um gás triatômico mais instável que o oxigênio, formado por descargas elétricas diante a molécula de oxigênio que se quebra e libera os átomos que se ligaram e formaram o Ozônio. Sendo bastante instável e oxidante, o ozônio retoma sua forma de oxigênio facilmente, visto pela medicina como um potencializador da cicatrização e reparação de tecidos (PAIXÃO et al., 2021).

É encontrado na atmosfera na forma gasosa, e pode ser produzido de duas formas, pela ação dos raios ultravioletas do sol ou artificialmente por um gerador, que forma o ozônio a partir da passagem de oxigênio puro por uma descarga elétrica de alta voltagem e alta frequência (AMARAL; MEDEIROS; PARADA, 2013).

O ozônio na aplicação clínica é uma mistura de no máximo 5% de ozônio e 95% de oxigênio. A dose utilizada pode variar entre 1 a 100 µg de ozônio para cada litro de oxigênio de acordo com a via de administração, conforme a patologia e a indicação. Sua meia vida é de aproximadamente 30 min a 20°C, ou seja, o mesmo é produzido no momento da aplicação (ANZOLI; BERTOL, 2018).

O ozônio atua aumentando a estabilidade das células normais e destruindo as células que se encontram doentes e estranhas ao corpo, como vírus e bactérias. Atua também como excretor de radicais livres, já que estimula a produção de algumas enzimas das paredes celulares que protegem as células dos danos causados pelos radicais livres (MACEDO; CARDOSO, 2005). Durante todo o processo tem como objetivo aprimorar a tecnologia, reduzir custos e otimizar o tempo de cura. Portanto, à medida que a tecnologia avança neste campo, usando novos produtos e métodos para cuidar de pacientes, assim existem diversas estratégias de tomada de decisão para tratar a lesão (FERREIRA et al., 2013).

Oliveira (2007), relata que com o uso de outras tecnologias (como terapia de pressão negativa e oxigenoterapia hiperbárica (OHB)), o ozônio tem baixo custo de investimento, alta eficiência e fácil manutenção, sendo por isso muito promissor clinicamente. Além de sua facilidade de uso e efeitos benéficos, pode ser uma boa opção de tratamento para pacientes com feridas e outras indicações encontradas na literatura, podendo ser estendido ao uso terapêutico da prática de prescrição de diversos profissionais de saúde.

### 3.2 Benefícios e Malefícios da Ozonioterapia

A ozonioterapia quando utilizada em doses terapêuticas e de forma tópica possui efetividade comprovada, visto que seu uso correto reduz a probabilidade de reações adversas. Ademais, o custo-benefício favorável, aliado à utilização do ozônio diluído em água ou na forma gasosa, reduzindo assim a perda de tecido, não causa dor, reduz a ansiedade, é de fácil aplicação tanto local como sistêmica, possui ação antimicrobiana, anti-inflamatórias, analgésicas, tornando-se um mecanismo eficaz (PAIXÃO et al., 2019).

Por ser uma terapia complementar, segundo a literatura, tem ajudado em muitos tratamentos, a oxigenação melhorada dos tecidos promove a cicatrização de feridas extensas e proporciona aos pacientes uma melhor qualidade de vida. Desse modo Amaral (2013), ressalta que a terapia com ozônio pode ser usada para tratar doenças de origem inflamatória, infecciosa e isquêmica.

Devido a sua capacidade de estimular a circulação, o ozônio tem sido usado para tratar doenças causadas por vírus, como hepatite, herpes simplex e herpes zoster, quaisquer feridas infectadas, inflamação incuráveis, como úlceras de perna, vasos sanguíneos, causadas por irrigação sanguínea arterial insuficiente, úlceras diabéticas, gangrena, colite e outras inflamações intestinais crônicas, queimaduras, hérnia de disco, dor lombar, artralgia causada por doenças inflamatórias crônicas, risco de ativação imunológica geral, como o risco de desenvolvimento de vários tipos de câncer (TRAVAGLI et al., 2010).

Mais recentemente, foi demonstrada sua aplicabilidade no tratamento de diversas infecções virais, especificamente no tratamento de COVID-19 (VALDENASSI et al., 2020). As propriedades bioquímicas e farmacológicas do ozônio fornecem motivos para considerar esta molécula favorável, impulsionando o sistema imune humoral e celular através da ativação de vias ligadas ao fator nuclear  $\kappa B$ , e fatores de transcrição das células T ativadas (DI MAURO et al., 2019).

Ainda neste contexto, o ozônio apresenta propriedades para estimular o sistema imune humoral, e reduzir os processos de inflamação. Inferindo aqui, seus benefícios frente ao tratamento de doenças virais, desde que, tratadas no início do processo, fato que não traz grande sucesso em casos graves ou críticos (CATTEL et al., 2021).

Embora exista muitos benefícios, é importante que os profissionais envolvidos nesta terapia tenham uma riqueza de conhecimentos sobre feridas para decisões de tratamento, como tipo de ferida, classificação, processo de cicatrização, tipo de necrose, tipo de desbridamento, avaliação de feridas e registro, é necessário que sigam todas as recomendações existentes (CALUNGA, 2007). CALUNGA et al. (2007), relata que é necessário saber que o ozônio excessivo pode prejudicar os pacientes e as doses baixas podem causar ineficiência, por isso é recomendado apenas para profissionais que podem indicar a dosagem correta e a via de aplicação.

Apesar dos vastos benefícios da ozonioterapia nem todos os pacientes estão aptos a utilizá-la, sendo contraindicado em casos de gravidez, lactantes, anemia severa, miastenia severa, intoxicação ao álcool aguda, hipertireoidismo, hipoglicemia, cardíacos, quadros de hemorragia e alergias ao ozônio (PAEZ et al., 2020). Fatores como concentração, tempo de exposição, metabolismo celular regulatório do próprio paciente e a produção dos radicais livres, são fatores que devem ser considerados para determinar prejuízos causados pelo uso do ozônio (OLIVEIRA et al., 2018).

Considerando a toxicidade do ozônio para as vias respiratórias, em especial frente a doses inadequadas e exposições prolongadas, podem ser observadas irritação das vias aéreas, rinite, dor de cabeça, tosse, náuseas, vômitos, interrupção da respiração de forma breve, problemas cardíacos, circulação deficiente, inchaço dos vasos sanguíneos (OLIVEIRA et al., 2018; PAEZ et al., 2020). Vale ressaltar aqui, que também é contraindicado sua inalação face a todas as alterações geradas em conjunto ao trato respiratório.

### **3.3 Ensaios de Aplicação para Ozonioterapia**

A ozonioterapia é utilizada em diversas áreas clínicas, podendo ser aplicada por via tópica ou sistêmica. Os métodos de administração incluem a via subcutânea, intramuscular, intradiscal, intracavitária (espaços peritoneal e pleural), intravaginal, intrauretral, vesical e auto-hemoterapia ozonizada, porém a inalação direta do gás ozônio, conforme mencionado anteriormente pode ser tóxica para o trato respiratório superior, causando irritação das vias aéreas superiores, rinite, dores de cabeça e, podendo ocorrer, náusea e vômito (RANALDI et al., 2020). Desde aplicações simples junto às escaras na pele até um estado avançado de pé diabético, os tratamentos com

ozônio costumam apresentar resultados surpreendentes em um curto espaço de tempo.

Existem métodos diferentes, para aplicação tópica (com água ou óleos ozonizados), o procedimento de bagging (com uma bolsa plástica que concentra o gás no local machucado) e ainda, mais invasivos. Aqui, são descritas algumas modalidades de aplicação do ozônio:

**a. Imersão transcutânea de ozônio:** a imersão transcutânea é a aplicação do ozônio gasoso por meio da insuflação de um saco plástico resistente (conhecido como bag de ozônio ou ensacado de ozônio), também por meio de uma bota de baixa pressão, construída para esse efeito (bota de Rokitansky) ou por meio de ventosa de ozônio (SCHWARTZ et al., 2010);

**b. Água ozonizada:** a água ozonizada é aplicada em feridas, úlceras e várias lesões, em diferentes concentrações, dependendo do resultado que se espera alcançar (desinfetar ou regenerar) e do tipo de tecido onde a mesma será aplicada (SCHWARTZ et al., 2010) Assim que entra em contato com os tecidos a água ozonizada tem uma reação imediata, tendo uma meia vida de cerca 10 horas à temperatura ambiente e, se refrigerada, pode durar dias. A água ozonizada é indicada para o alívio da dor, para desinfecção e para obter efeitos anti-inflamatórios em lesões agudas e 5 crônicas com e sem infecção (VIEBAHN-HANSLER, 2012);

**c. Óleo ozonizado:** o óleo ozonizado é obtido por meio do borbulhamento de uma mistura de ozônio-oxigênio em óleo vegetal à temperatura ambiente até que se solidifique. É utilizado no tratamento de feridas traumáticas, queimaduras, e também infecções locais, tais como micoses da pele e das unhas. É aplicado também no tratamento de feridas crônicas como úlceras por pressão, úlceras arteriais ou úlceras venosas do membro inferior. Ao entrar em contato com os tecidos fornece uma libertação de ozônio, tendo efeito preventivo, uma vez que favorece o processo cicatricial. Tem uma meia vida de 6 meses a 1 ano à temperatura ambiente e se refrigerados podem durar vários anos (SCHWARTZ et al., 2010);

**d. Gerador de alta frequência:** o gerador de alta frequência foi desenvolvido na Alemanha, em 1857, e é utilizado por fisioterapeutas como tratamento de lesões da pele (BARROS, 2007). Trata-se de um aparelho com correntes alternadas (alta tensão e baixa intensidade) com eletrodos de vidro, que tem a capacidade de produzir efeitos fisiológicos por ação térmica, produzindo vasodilatação periférica, melhora do

fluxo sanguíneo e do aporte de oxigênio (BORGES, 2006). O efeito do ozônio por meio do faiscamento produzido pela corrente ao atravessar o eletrodo, resulta em eliminação dos agentes patogênicos e, em seguida, liberação de O<sub>2</sub>, ativando a fibroplasia (BOCCI, 2009).

Esses são alguns modelos de tratamento que se concentram na superfície da pele ou em suas camadas mais profundas, aplicados diretamente entre feridas e curativos. Conforme observada sua evolução na Figura 1.

**Figura 1** - Evolução do uso de ozônio no tratamento de queimadura de segundo grau.



**Fonte:** <https://ozoxx.online/blog/imagens-reais-o-ozonio-na-cicatrizacao-de-feridas.html>

Outra aplicabilidade, realizada em casos mais graves, é demonstrada no tratamento de diabéticos, em sua evolução para terapias de pé diabético. A *Diabete mellitus* (DM) tem como uma de suas maiores complicações o pé diabético (Figura 2), principalmente quando a doença não é manejada adequadamente. Pé diabético é o termo relacionado a infecção, ulceração ou destruição de tecidos do pé associadas à

neuropatia e/ou doença arterial periférica em extremidades inferiores de uma pessoa com história de DM. Essa condição tem sua origem nas complicações microvasculares, macrovasculares e neuropáticas, o que afeta totalmente a qualidade de vida do paciente. Estudos revelam que 15 a 25% dos pacientes com diabetes apresentam ulcerações e infecções nos pés durante toda a vida, sendo esta doença a maior causa de amputação de membros inferiores (BRASIL, 2013).

A maior parte dos estudos elencados inclui o desbridamento e a antibioticoterapia sistêmica em associação ao ozônio tópico (bag) e sistêmico, geralmente aplicado por via retal destacando a sinergia entre antibióticos, a ozonioterapia e a cicatrização da ferida, evidenciada pela maior expressão de fatores de crescimento endógeno, quais sejam: Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF), Fator de Crescimento Transformador  $\beta$  (TGF-  $\beta$ ) e Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF). Em relação à posologia, a dosagem de ozônio empregada na utilização do bag geralmente foi de 52  $\mu\text{g/ml}$ , por um período aproximado de 20 dias (GIRONDI et al., 2021).

O bagging consiste na aplicação direta da mistura gasosa oxigênio-ozônio utilizando um saco plástico envolvendo a área a ser tratada por um tempo determinado. Já a insuflação retal consiste em inserir uma sonda na região retal para a administração da mistura de gases (GIRONDI et al., 2021).

**Figura 2 -** Evolução de tratamento em Pé Diabético.



Fonte: <https://ozoxx.online/blog/imagens-reais-o-ozonio-na-cicatrizacao-de-feridas.html>

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após analisar todo o material bibliográfico de referência utilizado na presente revisão, concluiu-se que, a ozonioterapia pode ser considerada viável e como aliada no tratamento de diversas patologias, visto que, o ozônio possui efeitos sistêmicos positivos, como oxigenação das células, controle de processos inflamatórios, estimulação da imunidade, desaceleração do crescimento viral e muitos outros benefícios. Entretanto, é necessário cautela e acerca de dosagens e tempo estabelecido para as terapias evitando prejuízos à saúde e sendo voltado apenas aos seus benefícios.

A ozonioterapia provou ser uma terapia integrativa eficaz e segura, se os procedimentos forem executados corretamente, sendo pouco invasiva para o tratamento de feridas e lesões, com capacidade de estimular a microcirculação e a regeneração em áreas específicas do corpo. Quando associada a fármacos a mesma potencializa seus efeitos tendo resultados mais rápidos, agilizando o tratamento e aliviando a dor.

Estudos para o esclarecimento de utilidades do ozônio ainda são necessários, como propostas de aplicação terapêutica e protocolos eficazes, assim como a qualificação de profissionais de saúde para atuação neste âmbito.

## REFERÊNCIAS

ABBADE, LPF; LASTÓRIA, S. Abordagem de pacientes com úlcera da perna de etiologia venosa. **Anais Brasileiros Dermatologia**. 2006

AGHAEI, M.; AGHAEI, S.; SOKHANVARI, F.; ANSARI, N.; HOSSEINI, S.M.; MOHAGHEGH, M.; HEJAZI, S.H.. The therapeutic effect of ozonated olive oil plus glucantime on human cutaneous leishmaniasis. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, 25-30. 2019.

AGUIAR, A. C.S.; SADIGURSKY, D.; MARTINS, L.A.; MENEZES, T.M.O.; SANTOS, A.L.S.; REIS, L.A. Repercussões sociais vivenciadas pela pessoa idosa com úlcera venosa. **Revista Gaúcha de Enfermagem - RGE**, Brasil, 37(3), 1-6. 2016.

ANZOLIN, A.P.; BERTOL, C.D. Ozonioterapia como terapêutica integrativa no tratamento da osteoartrose: uma revisão sistemática. **Brazilian Journal of Pain**. São Paulo, abr-jun:1(2):171-5, 2018.

ALMEIDA, R; GIACOMOLLI, CMH; COELHO, EL; BITTENCOURT, VLL;

CALLEGARO, CC. Stumm EMF. Gerador de alta frequência no tratamento de lesão por pressão em idosos. **Revista de enfermagem UFPE online**, Recife. 2017

BARROS, VCC; SANTOS, VNS; SANTOS, FB. Tratamento de Verruga Ungueal causada por HPV com uso do gerador de Alta Frequência: Relato de caso. **Revista Especializada em Fisioterapia**, Brasil. 2007.

BOCCI, V; BORRELLI, E; TRAVAGLI, V; ZANARDI, I. The ozone paradox: ozone is a strong oxidant as well as a medical drug. **Wiley Online Library**; 2009.

BOCCI, V; ZANARDI, I; TRAVAGLI, V. Oxygen/ozone as a medical gas mixture. A critical evaluation of the various methods clarifies positive and negative aspects. **Medical Gas Research**; 2011.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica : diabetes mellitus** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília : Ministério da Saúde, 160 p. : il. (Cadernos de Atenção Básica, n. 36). 2013.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. REGULAMENTO nº 76/2018 [em linha], Diário da República, 2.ª série, N.º 21, 30 de janeiro de 2018, [em linha] [consultado 6 Dezembro 2019] disponível em <https://dre.pt/application/conteudo/114599547>

BURGASSI, S; ZANARDI, I; TRAVAGLI, V; MONTOMOLI, E; BOCCI. How much ozone bactericidal activity is compromised by plasma components? **Journal of Applied Microbiology**, 2009.

CATTEL, F., GIORDANO, S., BERTIOND, C., LUPIA, T., CORCIONE, S., SCALDAFERRI, M., ANGELONE, L.; DE ROSA, F. G. Ozone therapy in COVID-19: A narrative review. **Virus research**, 291, 198207. 2021.

DI MAURO, R., CANTARELLA, G., BERNARDINI, R., DI ROSA, M., BARBAGALLO, I., DISTEFANO, A., LONGHITANO, L., VICARIO, N., NICOLOSI, D., LAZZARINO, G., TIBULLO, D., GULINO, M. E., SPAMPINATO, M., AVOLA, R., LI VOLTI, G. The Biochemical and Pharmacological Properties of Ozone: The Smell of Protection in Acute and Chronic Diseases. **International journal of molecular sciences**, 20(3), 634. 2019.

GIRONDI, JULIANA. Ozonioterapia no tratamento de feridas em adultos: revisão integrativa. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.7, n.7, p.68912-68925 jul. 2021

GUTIÉRREZ, JAV; MONTEQUÍN, ZF; NEGRÍN, JS; ARIAS, AM. **Ozonized oil: an effective alternative treatment for lower limb varicous ulcers at primary health care system**. Carretera Central. Pinar del Río. Cuba; 2009.

HERNÁNDEZ, R.F.A.; FERNÁNDEZ, C.J.L.; FIGUERAS, J.T. et al. Ozone therapy effects on biomarkers and lung function in asthma. **Archives of Medical Research**, v. 36, n. 5, p. 549–554, 2005.

KORELO, RIG; OLIVEIRA, JJJ; SOUZA, RSA; HULLEK, RF; FERNANDES, LC. Gerador de alta frequência como recurso para tratamento de úlceras por pressão: estudo piloto. **Fisioterapia em Movimento**; 2013.

MENÉNDEZ, S; FALCÓN, L; SIMÓN, DR; LANDA, N. **Efficacy of ozonized sunflower oil in the treatment of tinea pedis**. *Mycoses*; 2002.

MUTO, M.; GIURAZZA, F.; SILVA, R.P. et al. Rational approach, technique and selection criteria treating lumbar disk herniations by oxygen-ozone therapy. **Interventional Neuroradiology**, v. 22, n. 6, p. 736–740, 2016.

NOGALES, C.G.; FERREIRA, M.B.; MONTEMOR, A.F., RODRIGUES, M.F. A.; MARQUES, J.L.L. & ANTONIAZZI, J.H. Ozone therapy as an adjuvant for endodontic protocols: microbiological – ex vivo study and cytotoxicity analyses. **Journal of Applied Oral Science**.: 24(6), 607-13. 2016.

NOITES, R.; VAZ, C.P.; ROCHA, R.; CARVALHO, M.F.; GONÇALVES, A.; VAZ, I.P. Synergistic Antimicrobial Action of Chlorhexidine and Ozone in Endodontic Treatment. **BioMed Research International**, 1-6. 2014.

OLIVEIRA, CTJ. **Revisão sistemática de literatura sobre o uso terapêutico do ozônio em feridas**. São Paulo: University of São Paulo, Escola de Enfermagem; 2007.

OLIVEIRA, L.E.A.; QUEIROZ, H.M.A.; FEITOSA, E.A.; CHAGAS, R.B.; BRÍGIDO, J.Á.; SALDANHA, A.D.D. **Ozonioterapia e odontologia: Novas perspectivas**. Conexão fametro: Inovação e criatividade. XIV Semana acadêmica. Pp.1-7. 2014.

PAEZ, T.T.; PEREIRA, P.A.I.; ASSIS, L.; SANTOS, L.; TIM, C.R. Ozonioterapia e seus aspectos controvertidos: eficácia x regulamentação jurídica específica. **Centro Universitário Braz Cubas**, 9(5), 1-21. 2020.

PAIXÃO, L.D.; DIETRICH, L; MARTINS, L.H.B.M.; BARROS, D.V. Terapias alternativas na endodontia-ozonioterapia: Revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n.6, e32310615710, 2021.

PENIDO, BR; LIMA, A; FERREIRA, LFL. Aplicações da ozonioterapia na clínica veterinária. **PubVet, Londrina**, v.4, N.40, Ed. 145, Art. 978;2010.

PIRES, SR; NASCIMENTO, CA; ANDRADE, EN. Uso da eletroestimulação de alta voltagem na cicatrização de úlceras venosas. **Fisioterapia em Movimento**, v. 22, n. 4; 2017.

RANALDI, G.T.; VILLANI, E.R.; FRANZA, L. Rationale for ozone-therapy as an adjuvant therapy in COVID-19: a narrative review. **Medical Gas Research**, 10(3), 134–138. 2020.

ROSALES, JVMR. **Ozono en el tratamiento de la infección y cicatrización de úlceras en pie diabético**. Colima; 2007.

SANTOS, RP; NASCIMENTO, CA; ANDRADE, EN. **Use of high voltage electrical stimulation in healing of venous ulcers.** Curitiba, Atlas Ramalho 2009

TRAINA, AP. **Efeitos biológicos do ozônio diluído em água na reparação tecidual de feridas dérmicas em ratos.** São Paulo: Faculdade de Odontologia; 2008.

TRAVAGLI, V.; ZANARDI, I.; BERNINI, P.; NEPI, S.; TENORI, L.; BOCCI, V. Effects of ozone blood treatment on the metabolite profile of human blood. **American College of Toxicology**, 29:165-174. 2010.

VALACCHI, G; BOCCI, V. **Studies on the biological effects of ozone: Release of factors from human endotelial cells, mediators inflamm;** Mediators of Inflammation 2000.

VALDENASSI, L.; FRANZINI, M.; SIMONETTI, V. et al. Oxygen-ozone therapy: paradoxical stimulation of ozone. **Ozone Therapy**, v. 1, n. 1, p. 2, 2016.

VALDENASSI, L., FRANZINI, M., RICEVUTI, G., RINALDI, L., GALOFORO, A. C., & TIRELLI, U. Potential mechanisms by which the oxygen-ozone (O<sub>2</sub>-O<sub>3</sub>) therapy could contribute to the treatment against the coronavirus COVID-19. **European review for medical and pharmacological sciences**, 24(8), 4059–4061. 2020.

VIEBAHN-HÄNSLER, R; FERNÁNDEZ, OSL; FAHMY, Z. **Ozônio em medicina: avaliação clínica e classificação de evidências das aplicações do ozônio sistêmico, auto-hemoterapia maior e insuflação retal, de acordo com os requisitos para a medicina baseada em evidências,** Universidade Federal de Uberlândia, 2016.

VITORIA, JF. **A case of gangrenous phyoderma treated with ozone therapy.** Gandia, Valencia, Espanha, Ozone Therapy Training 2008.

WAINSTEIN, JMD; FELDBRIN, ZMD; BOAZ, MPHD; HARMAN-BOEHM, LDM. **Efficacy of Ozone–Oxygen Therapy for the Treatment of Diabetic Foot Ulcers.** Israel; 2009.

ZHANG, J; GUAN, M; XIE, C; LUO, X; ZHANG, Q; XUE, Y. **Increased growth factors play a role in wound healing promoted by noninvasive oxygen-ozone therapy in diabetic patients with foot ulcers.** China; 2014.

# FERTILIZAÇÃO IN VITRO E A POSSÍVEL INFLUÊNCIA DA VITAMINA D

## IN VITRO FERTILIZATION AND THE POSSIBLE INFLUENCE OF VITAMIN D

Maria Clara Fontes Pacheco <sup>1</sup>  
Carolina Batista Ariza Tamarozzi <sup>2</sup>  
Anelise Franciosi <sup>3</sup>

### RESUMO

Foi elaborado um estudo descritivo, por meio de revisões sistemáticas com enfoque em investigações de dados bibliográficos que expressassem o papel da vitamina D em mulheres que fossem realizar a técnica de fertilização *in vitro* (FIV). Muitos estudos evidenciam uma relação entre a deficiência de vitamina D e as taxas de êxito de mulheres que realizam a FIV, principalmente por essa vitamina ser vista como um possível marcador de qualidade dos ovócitos e embriões, dessa forma podendo fazer um prognóstico dos resultados da FIV. A FIV é um dos procedimentos de reprodução assistida, feita em laboratórios para fecundação extracorpórea do óvulo pelo espermatozoide, onde ele vai ser injetado por técnicas no útero da mulher, a fim de se implantar e desenvolver em condições favoráveis para isso. Milhares de pessoas sofrem com problemas de infertilidade nos dias atuais e mesmo com todas as objeções éticas e científicas o entendimento sobre a FIV foi se expandindo, se tornando uma técnica muito recorrente entre os casais que sofrem com a infertilidade. A vitamina D é responsável por aumentar a absorção de cálcio e fosfato utilizado para restituição estruturais e funcionais normais do sistema esquelético, no entanto, muitos estudos falam que ele possui outras funções importantes, principalmente na reprodução humana. Por causa das funções extra esqueléticas a síndrome do ovário policístico (SOP) e a endometriose, são as duas principais doenças que levam à infertilidade feminina que vem sendo muito associada com as funcionalidades da vitamina D. Em razão do aumento dos números de casos de infertilidade, a FIV acabou se tornando uma técnica relevante e muitos pesquisadores encontraram várias funcionalidades da vitamina D na reprodução humana, mas como ainda tem muitas objeções entre a vitamina D com a FIV, são necessárias novas pesquisas para um melhor esclarecimento.

**Palavras-chave:** fertilização in vitro; história da FIV; infertilidade; vitamina D; deficiência de vitamina D; vitamina D e infertilidade.

### ABSTRACT

A descriptive study was prepared through systematic reviews focusing on investigations of bibliographic data that expressed the role of vitamin D in women who

<sup>1</sup> Graduanda do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia - UniFil.  
mcfpacheco@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Coorientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. do curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia - UniFil.  
carolina.ariza@unifil.br

<sup>3</sup> Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. do curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia - UniFil.  
anelise.franciosi@unifil.br.

were going to undergo the in vitro fertilization (IVF) technique. Many studies show a relationship between vitamin D deficiency and the success rates of women who undergo IVF, mainly because this vitamin is seen as a possible marker of the quality of oocytes and embryos, thus being able to make a prognosis of the results of IVF. . IVF is one of the assisted reproduction procedures, carried out in laboratories for extracorporeal fertilization of the egg by sperm, where it will be injected using techniques into the woman's uterus, in order to implant and develop in favorable conditions for this. Thousands of people suffer from infertility problems nowadays and despite all the ethical and scientific objections, the understanding of IVF has expanded, becoming a very common technique among couples suffering from infertility. Vitamin D is responsible for increasing the absorption of calcium and phosphate used for normal structural and functional restoration of the skeletal system, however, many studies say that it has other important functions, mainly in human reproduction. Due to extra skeletal functions, polycystic ovarian syndrome (PCOS) and endometriosis are the two main diseases that lead to female infertility, which have been closely associated with the functionalities of vitamin D. Due to the increase in the number of infertility cases , IVF ended up becoming a relevant technique and many researchers found several functionalities of vitamin D in human reproduction, but as there are still many objections between vitamin D and IVF, new research is needed for better clarification.

**Keywords:** in vitro fertilization; history of IVF; infertility; vitamin D; vitamin D deficiency; vitamin D and infertility.

## 1 INTRODUÇÃO

A fertilização *in vitro* (FIV) é uma técnica de reprodução assistida, feita em laboratórios para fecundação extracorpórea do óvulo pelo espermatozoide, e o embrião é injetado no útero da mulher, a fim de se implantar e desenvolver em condições favoráveis para isso (RODRIGUES *et al.*, 2009).

Milhares de pessoas sofrem com problemas de infertilidade nos dias atuais e mesmo com todas as objeções éticas e científicas, o entendimento sobre a FIV foi se expandindo, se tornando uma técnica muito recorrente para os casais que sofrem com a infertilidade (ESKEW *et al.*, 2017; TROUNSON, 2018).

A realização da FIV no Brasil, teve um aumento de 168% nos últimos 7 anos. Hoje em dia, são feitos aproximadamente 36 mil tratamentos no ano, de acordo com o relatório do Sistema Nacional de Produção de Embriões da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (WOLFF, 2023).

Aproximadamente 30% do número de métodos realizados dão origem a bebês, o que equivale em torno de 10 mil crianças, feita pela FIV, por ano. Esses dados

correspondem a menos de 0,5% dos 2,8 milhões de crianças que nascem ao longo de um ano. Por mais que o número pareça irrelevante, ele é muito significativo para as mulheres que sofrem com a infertilidade (WOLFF, 2023).

Já é de conhecimento que a infertilidade é uma das complicações que afligem muitas mulheres em idade reprodutiva e ela pode ser provocada através de diversos fatores como, má qualidade na ovulação, obesidade, desnutrição, pouco consumo de alguns nutrientes como por exemplo o selênio, e insuficiência da vitamina D (COSTA *et al.*, 2021).

A vitamina D (VTD) é responsável por aumentar a absorção de cálcio e fósforo utilizado para restituição estruturais e funcionais normais do sistema esquelético, porém estudos demonstram que ela possui outras funções importantes, principalmente na reprodução humana (VOULGARIS *et al.*, 2017; JEREMIC *et al.*, 2021).

Duas principais doenças que levam à infertilidade feminina vêm sendo associadas com as funcionalidades da VTD, por causa das funções extra esqueléticas, sendo elas a síndrome do ovário policístico (SOP) e a endometriose (JEREMIC *et al.*, 2021).

Portanto, recentemente muitas pesquisas estão sendo feitas em que a quantidade folicular de VTD está sendo vista como um possível marcador de qualidade ovócitos e embriões, dessa forma podendo fazer um prognóstico dos resultados da FIV (JEREMIC *et al.*, 2021).

## 2 METODOLOGIA

Foi realizado um estudo descritivo, elaborado por meio de revisões sistemáticas com enfoque em investigações de dados bibliográficos que expressassem o papel da vitamina D em mulheres que fossem realizar a técnica de fertilização *in vitro*. Os artigos selecionados foram do período de setembro de 2003 até abril de 2022 e dados de um blog publicado em junho de 2023. Palavras-chaves: Fertilização In Vitro, história da FIV, infertilidade, vitamina D, deficiência de vitamina D, vitamina D e infertilidade. Bancos de dados utilizados: National Library of Medicine (PubMed) e Scientific Electronic Library (SciELO). Os parâmetros usados para a obtenção dos estudos foram artigos que mostraram a associação entre fertilidade *in vitro* com os níveis

séricos da VTD, nos idiomas português e inglês.

### 3 TÉCNICAS DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA: FERTILIZAÇÃO IN VITRO

A fertilização *in vitro* (FIV) consiste em tecnologia de reprodução assistida cujos processos fisiológicos de maturação folicular, fertilização e desenvolvimento embrionário são realizados em laboratórios especializados para fecundação extracorpórea do óvulo pelo espermatozoide, sendo o princípio de todas as outras técnicas de reprodução assistida (RODRIGUES *et al.*, 2009).

As causas mais significativas referentes às metodologias que levam ao êxito da técnica são os números de ovócitos readquiridos e os de embriões qualificados subsequentes de laboratórios. Os embriões que acabaram sendo fecundados a mais do que os pais queriam aproveitar, podem ser doados de forma segura, onde irão ser criopreservados por tempo indeterminado para um possível uso futuramente. Por conta da transmissão de diversos embriões, os resultados do método de FIV nos dias de hoje ultrapassam rapidamente a fecundabilidade dos ciclos naturais na sociedade em geral (ROCHA *et al.*, 2022).

O motivo fundamental que leva a falha em atingir a gravidez por FIV é a ausência da fecundação, má qualidade embrionária, declínio da aceitação endometrial ou da competência da transição do embrião (ROCHA *et al.*, 2022).

Apesar de ser muito recorrente atualmente, é um procedimento que é encarado como árduo e cansativo tanto para mulheres e homens, já que esse método consiste em aplicações de injeções com hormônios para fazer a indução da ovulação, vários testes laboratoriais, exames de ultrassonografia, medicações, anestesia, obtenção da amostra de sêmen por masturbação e principalmente a euforia para fazer a transferência dos embriões (MAKUCH *et al.*, 2010).

Os estudos na área de reprodução humana sempre foram acompanhados de inúmeras objeções científicas e éticas, que no começo atrapalharam a evolução dos tratamentos para a infertilidade. Contudo, o entendimento sobre a FIV foi se expandindo e na década de 70, em Melbourne o médico ginecologista Carl Wood criou uma associação de pesquisa no hospital Queen Victoria, onde o grupo expôs a primeira gravidez bioquímica de um embrião humano feito por transferência de FIV para transplante em paciente inférteis, no ano 1973 (ESKEW *et al.*, 2017;

TROUNSON, 2018).

Os pesquisadores se concentraram na gonadotrofina menopausal humana (hMG) para a reprodução folicular múltipla, e laparoscopia para fazer a recuperação do ovócito, por meio do processo de indução do hormônio gonadotrofina coriônica humana (hCG), dessa forma induzindo a ovulação em mulheres não férteis (TROUNSON, 2018).

Foi inserido na equipe o Royal Women's Hospital Melbourne, sendo os primeiros a fazerem a confirmação da gravidez de um casal britânico com a FIV em ciclos naturais, nascendo o primeiro "bebê de proveta", Louise Brown, no ano de 1978. Os médicos fizeram a restauração por laparoscopia de um ovócito pré-ovulatório proveniente do ovário e fizeram a fertilização, logo após, seguiu-se com a transferência do embrião para a mãe (ESKEW *et al.*, 2017; TROUNSON, 2018).

No ano de 1981, nasceu o primeiro bebê de FIV nos Estados Unidos e o 15° do mundo. O médico não usou um ovócito que foi produzido naturalmente, mas injetou o hCG por vários dias para estimular os folículos ovarianos a formarem os oócitos (estimulação ovariana controlada - COS), fazendo por laparoscopia a coleta dos ovócitos pré-ovulatórios, fertilizado *in vitro* e posteriormente fazendo a transferência no terceiro ou quinto dia para o útero da mulher (ESKEW *et al.*, 2017).

A reprodução humana iniciou seu desenvolvimento no Brasil em 26 de dezembro de 1947, quando foi originada a Sociedade Brasileira de Esterilidade (SBE) na cidade do Rio de Janeiro. Em 1984, nasceu Anna Paula Caldeira, em São José dos Pinhais, no Paraná, o primeiro bebê proveniente da FIV no Brasil, conduzido pela Dra. Hitomi Nakamura, presidente da SBE (SOUZA *et al.*, 2016).

A COS controlada foi usada nos primeiros estudos da FIV, em mulheres que fizeram ciclos menstruais normais que geram em média 0,7% dos ovócitos por coleta e uma porcentagem de gravidez de 6% por ciclo. No ano de 1980, pesquisadores do Jones Institute em Norfolk (Virgínia), começaram a aplicar gonadotrofina em mulheres para estimular muitos folículos ovarianos a formarem oócitos, que foram então fertilizados *in vitro* e os embriões saudáveis introduzidos no útero da mulher. Como o hCG é degenerado de forma rápida no corpo, as mulheres tinham a necessidade de serem submetidas a injeções durante 10 dias (ESKEW *et al.*, 2017).

Primeiramente, o hCG foi utilizado para instigar a ovulação por ser

fisiologicamente similar ao hormônio luteinizante que intensifica de forma acelerada um ciclo natural, provocando a ovulação. Então, mesmo com a COS sendo trabalhosa e realizada com cautela, uma das preocupações consideráveis nessa técnica foi a ovulação prematura que acaba impedindo a reintegração dos ovócitos (ESKEW *et al.*, 2017).

Para solucionar esse obstáculo, em 1979 médicos fizeram o monitoramento da COS, mensurando em série os níveis séricos de estradiol e examinando pela passagem transvaginal os folículos ovarianos, fazendo assim um monitoramento adequado dos fatores de risco que facilitou as medidas preventivas. Todavia, duas inovações na FIV fizeram com que fosse capaz precaver de um modo garantido a restauração do ovócito, pelo uso de agonistas do hormônio liberador de gonadotropina (GnRH) na década de 80 e de antagonistas de GnRH em 2001, já que o agonista do GnRH depois da ação inicial estimulatório acerca da hipófise, vão provocar a dessensibilização das células gonadotróficas por conta da diminuição na quantidade de receptores de GnRH na membrana celular e antagonistas vão proporcionar uma inibição convergente dos receptores de GnRH, causando uma supressão instantânea da secreção de gonadotrofinas (ESKEW *et al.*, 2017; ROSAN *et al.*, 2003).

Foi observado em modelos animais que a carência da VTD tem relação com a função ovariana debilitada e uma baixa na fertilidade. Contudo, ensaios feitos em mulheres que realizavam a FIV apontam que as concentrações de VTD sérica no líquido folicular (FF), pode ser compreendida como um indicador do êxito da FIV (SILVA *et al.*, 2020).

### **3.1 Vitamina D e a sua associação com a Fertilização In Vitro**

A VTD faz parte de um grupo de esteroides lipossolúveis que são responsáveis pelo aumento da absorção de cálcio e fosfato, empregados nas restaurações estruturais e funcionais normais do sistema esquelético. Há duas formas fundamentais relevantes de VTD, vitamina D2 (ergocalciferol) e vitamina D3 (colecalciferol). O ergocalciferol é constituído na pele humana por um precursor do colesterol o 7-desidrocolesterol (7-DHC), na existência da radiação UVB que converte o 7-DHC em pré-vitamina D3, prontamente fazendo a isomerização em vitamina D3 (SKOROYSKA

*et al.*, 2016; VOULGARIS *et al.*, 2017).

O calcitriol age por meio da ligação ao receptor nuclear específico, ou seja, o receptor de vitamina D (VDR), que quando ativado leva a variados efeitos genômicos, podendo se ligar também ao receptor de membrana plasmática que avalia os efeitos não genômicos. O VDR age juntamente com o receptor retinoide X (RXR), gerando um heterodímero (proteína composta por duas subunidades diferentes), como outros repressores ou ativadores que fazem o controle funcional. O heterodímero VDR-RXR reúne-se com componentes correspondentes à VTD (VDREs), que ficam na região promotora de genes alvos fazendo a orientação da sua transcrição (VOULGARIS *et al.*, 2017).

O VDR faz parte da superfamília de receptores de hormônio nuclear esteroide/tireoidiano e ele foi detectado em todo o corpo, abrangendo os tecidos reprodutivos, como testículos, ovário, placenta, útero, hipotálamo e hipófise, resultando nas aplicações da VTD diante outros processos fisiológicos (MCGOVERN *et al.*, 2020).

Merhi *et al.*, (2012) examinaram uma conexão favorável entre os níveis séricos e observaram uma correlação positiva entre os níveis de VTD e hormônio anti-Mulleriano (AMH) em mulheres com idade reprodutiva mais avançada. Pesquisadores da ciência básica constataram que a região promotora do gene do hormônio AMH possui um componente de resposta à VTD (MCGOVERN *et al.*, 2020).

As últimas diretrizes revisadas da ESNA (*Endocrine Society of North America*) declaram que quando os valores dos níveis séricos de VTD se encontram entre 21-29 ng/mL existe uma deficiência dela, ou seja, hipovitaminose que insere concentrações menores de 20 ng/mL, podendo estar correlacionado com o aumento de riscos de ocorrências clínicas (BALDINI *et al.*, 2021).

Ultimamente as ações extra esqueléticas da VTD vem mostrando um grande interesse entre os cientistas, com a compreensão que o VDR e as enzimas são essenciais para a produção da sua forma ativa. Essa forma se apresenta em praticamente todas as células e tecidos humanos e sua deficiência está relacionada com a osteoporose, várias doenças crônicas como, câncer, doenças autoimunes e infecciosas, cardiovasculares e diabetes *mellitus* do tipo 2 (VOULGARIS *et al.*, 2017).

Existem indícios progressivos que a 25-hidroxivitamina D [25(OH)D] tem função

importante na reprodução humana, como auxiliar na restauração do ciclo menstrual e proliferação do endométrio, proporcionar os desenvolvimentos dos folículos, melhorar a dismenorreia primária e diminuir episódios de miomas uterinos. O VDR foi encontrado nos tecidos reprodutores femininos, incorporando as células epiteliais ovarianas, endometriais e tubas uterinas, placenta e células decíduais (CIEPIELA *et al.*, 2018).

É importante dizer que a VTD aflige a acessibilidade endometrial, ou seja, mulheres que expressam o VDR no endométrio, principalmente no decorrer da implantação do embrião, possuem uma maior tendência de engravidar do que as que têm uma expressão menor desse receptor (VÁRBÍRÓ *et al.*, 2022).

O AMH é um bom indicativo da função ovariana, ele também se relaciona com os níveis de VTD, por isso tem como fazer observações sazonais (quando comparado com o verão, a quantidade de AMH decai em 18% no inverno), a alteração da quantidade de AMH está relacionada com a magnitude da variação nos primeiros níveis desse hormônio e vitamina. Essas transformações são parecidas com as analisadas em relação às taxas de gravidez (VÁRBÍRÓ *et al.*, 2022).

A VTD por meio do seu receptor pode fazer a modulação da esteroidogênese ovariana, que as manifestações do VDR aumentem ao longo da gravidez e informações clínicas propõem que índices mais baixos da vitamina podem estar relacionados com a diabetes gestacional e pré-eclâmpsia (CIEPIELA *et al.*, 2018).

As maiores recorrências do câncer de próstata, cólon, ovário e mama é expressa em pessoas com a hipovitaminose do VTD 10. Indivíduos do sexo masculino de casais inférteis que fazem ciclos de FIV também apresentam taxas menores de gravidez, por conta da deficiência da VitD 12 (BALDINI, 2021).

A existência de receptores de VTD nos ovários, útero e placenta propôs sua função na fisiologia reprodutiva. Mulheres que são inférteis e tem a síndrome do ovário policístico (SOP), possuem níveis séricos da VTD menores do que em mulheres férteis, já as que têm endometriose demonstram níveis mais elevados ou inferiores, ou seja, uma desregulação (JEREMIC *et al.*, 2021).

A SOP é a mais comum endocrinopatia e a causa fundamental da infertilidade entre as mulheres em período reprodutivo, sendo uma síndrome com heterogeneidade bioquímica e clínica que atinge de 6 a 10% das mulheres no mundo

(VOULGARIS *et al.*, 2017).

Suas causas são desconhecidas, mas foi observado nos pacientes com SOP, que a fisiologia do ovário é afetada por distúrbios metabólicos, dessa forma, um efeito favorável da VTD nos desequilíbrios metabólicos podem significar uma fisiologia ovariana exemplar (DASTORANI *et al.*, 2018).

Mulheres que têm SOP com VTD em quantidades insuficientes possuem chances menores de ovular e terem taxas de nascidos vivos, em contrapartida, as que possuem infertilidade inexplicada a carência da VTD não diminui de maneira exacerbada a taxa de nascidos vivos (KL *et al.*, 2020).

Portanto, é feita uma associação entre a resistência à insulina e a obesidade. A VTD atinge o metabolismo afetando conseqüentemente a secreção de insulina, por isso os pesquisadores tentam relacionar a SOP com o metabolismo da VTD. A insuficiência da VTD pode ser associada com uma discordância nos marcadores de hiperandrogenismo, como desidroepiandrosterona sérica (DHEAS), testosterona total (T), índice de androgênio livre (FAI), testosterona livre e globulina de ligação a hormônios sexuais (SHBG), enfatizando que a hiperinsulinemia e a resposta imune possuem papel fundamental na patogenia da SOP, mesmo sem a obesidade ter atingido características clínicas (SKOWROYSKA *et al.*, 2016; VOULGARIS *et al.*, 2017).

O tratamento com VTD causa uma diminuição nos níveis séricos de andrógenos e AMH nas pacientes com SOP e leva a uma diminuição da espessura endometrial. A configuração endometrial patológica prejudica a implantação, no entanto fazer uma suplementação de VTD favorece essa implantação, ampliando os parâmetros de fertilidade, portanto, a aceitação endometrial foi melhor em decorrência da suplementação dessa vitamina nas pacientes com SOP (VÁRBÍRÓ *et al.*, 2022).

A manifestação do VDR nas células granulosas e na VTD presente no FF, diminuiram na síndrome do ovário policístico, o que leva a uma insinuação que fazer a suplementação de VTD pode contribuir na terapia de infertilidade na SOP (VÁRBÍRÓ *et al.*, 2022).

Foi exposto que fazer a suplementação de VTD melhora a resistência à insulina e o metabolismo lipídico, diminui os níveis de testosterona, indicadores inflamatórios e os níveis séricos de AMH e regula o ciclo menstrual em mulheres com SOP.

Estudiosos mostraram que os níveis séricos da VTD estão relacionados favoravelmente às taxas da FIV, no entanto, não com a gravidez clínica e as taxas de nascidos vivos por essa técnica. Essas descobertas sugerem que o tratamento com a suplementação de VTD funciona, especialmente em mulheres com SOP (KL *et al.*, 2020).

As evidências que analisam o efeito da falta de VTD na taxa de êxito na FIV são escassas, além de que a essa está relacionada com a estimulação ovariana insuficiente na SOP, mas não com a infertilidade inexplicada. Deste modo, foi comprovado que a VTD está vinculada com a desregulação hormonal e metabólica em mulheres com SOP (DASTORANI *et al.*, 2018).

Foram expostos 3 métodos possíveis que relacionaram a VTD com a resposta imune: I- A VTD leva a um aumento na atividade da insulina ao controlar a manifestação do seu receptor e elevar o reflexo da insulina no transporte de glicose. II- O calcitriol aciona a transcrição do VDR e do gene da insulina humana que possui no seu promotor. III- A VTD faz o controle do cálcio intra e extracelular, que é primordial para os processos intervenientes da insulina nos tecidos responsáveis por ela, ou seja, ação inflamatória (VOULGARIS *et al.*, 2017).

Contudo, a maior parte das mulheres que possuem SOP demonstram sobrepeso ou obesidade, na qual a obesidade se relaciona com níveis menores de 25(OH)VTD (calcifediol), sobre o sequestro da vitamina lipofílica no tecido adiposo e a diminuição da incidência solar nessas pessoas, já que não sentem tanta vontade de expor seus corpos ao sol (VOULGARIS *et al.*, 2017).

Uma comparação feita com estudos de Hahn *et al.*, (2006) e Wehr *et al.*, (2009) respectivamente, demonstraram uma analogia positiva do 25(OH) com SHBG, resultado que nem o FAI, T e testosterona livre demonstraram. Onde foi feita uma investigação com um grupo de 120 mulheres com SOP, verificando uma relação expressiva entre calcifediol (radioimunoensaio) e SHBG e outra análise com 206 mulheres, averiguando assim os níveis de vitamina 25(OH)D no soro utilizando ELISA (SKOWROYSKA *et al.*, 2016).

Existem muitas apresentações indicando que a suplementação dietética com o uso da VTD ou semelhantes, aprimoram a sensibilidade, secreção da insulina e os princípios de foliculogênese ovariana e ovulação. Dessa forma, a relação da VTD com

os critérios metabólicos e endócrinos em mulheres que possuem esse distúrbio, faz com que a VTD seja um marcador em potencial para a SOP e até um bom medicamento para tratar essas pacientes (SKOWROYSKA *et al.*, 2016).

Dessa forma, os efeitos positivos da vitamina D nas disfunções metabólicas na SOP podem ser interpretadas como uma vantagem na fisiologia ovariana, sendo indicado fazer a suplementação de VTD como um potencial adjuvante terapêutico para uma alteração ovulatória e distúrbios metabólicos nas mulheres inférteis com SOP, por conta do seu papel fisiológico na função reprodutiva. (DASTORANI *et al.*, 2018).

A endometriose é um estado pró-inflamatório indicado por altas concentrações de citocinas e fatores de crescimento, redução da apoptose celular e aumento da angiogênese, podendo relacionar todos eles às dores. Essa patologia tem relação com a hiperplasia endometrial fora da cavidade uterina, que acontece em 7 a 15% das mulheres que ainda menstruam. Há muitas hipóteses sobre a sua origem, mas os seus mecanismos ainda não são conhecidos. Uma das teorias propõe um regresso das células endometriais (menstruação retrógrada), predisposição genética, distúrbios imunológicos, transporte de metaplasia celular por meio dos vasos sanguíneos e linfáticos, condições ambientais e a ação da VTD (NODLER *et al.*, 2020; SKOWROYSKA *et al.*, 2016).

De acordo com Borkowski *et al.*, (2008), demonstraram que a quantidade da proteína ligadora da vitamina D (VDBP) no líquido peritoneal em mulheres que possuem esse distúrbio foi menor em relação com mulheres saudáveis, mas a tendência da VDBP no soro foi o contrário. Sendo assim, esses resultados acabaram não sendo relevantes e eles constataram que a concentração da proteína ligadora da VTD foi maior nas que possuíam a endometriose em relação com o grupo controle, apontando um certo envolvimento do polimorfismo no VDBP (GC-2) na patogenia da afecção inflamatória (SKOWROYSKA *et al.*, 2016)

Os meios biológicos que relacionam a endometriose com a infertilidade são uma anatomia alterada da pelve, função peritoneal modificada, anormalidades na ovulação e implantação prejudicada (relação do endométrio eutópico ter diminuído a expressão dos marcadores biológicos de aceitabilidade endometrial, como integrina  $\alpha\beta3$ , glicodalina A), osteopontina e HOXA10. Concluindo, as concentrações de diversas formas da VTD e VDBP podem ser usados como prósperos marcadores para

a endometriose, contudo é importante levar em consideração estação do ano e tipo de pele (SKOWROYSKA *et al.*, 2016).

A FIV retrata uma forma preciosa para analisar a importância da VTD na fertilidade humana, admitindo uma análise de cada ciclo do processo de reprodução. Há pouco tempo os níveis foliculares da VTD estão sendo encarados como possíveis marcadores de qualidade de ovócitos, embriões e também para prever os resultados da fertilização *in vitro*. Portanto, a associação da análise sérica e folicular da VTD, como observação morfológica do embrião vem proporcionando um procedimento mais preciso para indicar a competência do desenvolvimento embrionário (JEREMIC *et al.*, 2021).

O grau materno de VTD tem ação na hora de fazer a seleção do melhor esperma na fertilização, favorecendo a qualificação adequada, hiperativação e reação acrossômica. Todavia, a quantidade paterna de VTD não possui ação acerca desses procedimentos, porque não tem VTD no sêmen (VÁRBÍRÓ *et al.*, 2022).

A relação da FIV com as quantidades de VTD se mantém questionável, mesmo que algumas pesquisas, como a feita por Embora Polyzos *et al* (2014) declarou que mulheres que possuem deficiência dos níveis séricos desta vitamina obtiveram taxas menores de gravidez clínicas se comparadas com as mulheres que têm níveis normais (CIEPIELA *et al.*, 2018).

Ciepiela *et al.*, (2018) investigou a relação entre o nível de VTD [25(OH)D] em folículos individuais e a competência de desenvolvimento do oócito, revelando que os graus de 25(OH)D em FF tiveram uma relação negativa com a competência dos oócitos a serem fertilizados, seguido do desenvolvimento embrionário pré-implantação. Os oócitos que foram maturados no FF com baixa quantidade de calcidiol, estão mais sujeitos a gerarem embriões de boa qualidade, relacionando-se com maiores taxas de gravidez e partos. Em contrapartida, a diminuição do acúmulo sérico de VTD tem relação com as maiores taxas de aborto espontâneo (CIEPIELA *et al.*, 2018).

Como revisado pelo autor VÁRBÍRÓ *et al.*, (2022), resultados mostraram que o nível da VTD interfere nos resultados da FIV independentemente da idade, IMC (índice de massa corporal), etnia e quantidade de embriões transferidos. Esses níveis relacionam-se intensamente com as taxas de êxitos e cada acréscimo de nmol/L na

capacidade de VTD presente no FF, intensifica a expectativa de gravidez clínica em 2,4%. Pode-se confirmar que os níveis excelentes de VTD em homens e mulheres exercem uma função relevante na fertilidade e resultados da FIV (VÁRBÍRÓ et al., 2022).

Foi verificado que a incidência de gravidez clínica e implantação foram substancialmente maiores nas mulheres com níveis normais de VTD, quando comparadas com as que possuem esses níveis menores (<20 ng/mL 25(OH)-vitamina D). A quantidade de VTD tem uma forte relação com a possibilidade de ter uma implantação ou gravidez clínica ( $p < 0,01$ ), eles aprimoram a qualidade embrionária (o número de embriões de boa qualificação depois de uma intervenção com VTD é igual ao que acontece nas mulheres com quantidades apropriadas dessa vitamina (VÁRBÍRÓ et al., 2022).

### **3.2 Níveis foliculares e séricos de vitamina D em mulheres com infertilidade inexplicada e sua relação com os resultados de fertilização in vitro**

Uma pesquisa feita por Jeremic *et al.*, (2021), teve como objetivo estabelecer uma ligação entre os níveis séricos e FF da VTD nas mulheres que possuem uma infertilidade sem explicação, investigar a quantidade de VTD e FF durante a regeneração do ovócito e efeitos significativos na FIV (JEREMIC *et al.*, 2021).

A VTD tem uma ação nos resultados da COS em mulheres que fazem a FIV, mas a relação dos níveis séricos com o FF da VTD unicamente em mulheres com infertilidade inexplicada, mostra que 10 a 30% dos casais que são submetidos a essa técnica, ainda não passaram por um estudo (JEREMIC *et al.*, 2021).

A infertilidade inexplicada pode ser determinada pela deficiência de fecundação, mesmo tendo relação sexual desprotegida no período de um ano, não evidenciada por anovulação, esperma defeituoso, alteração tubária ou causas conhecidas de infertilidade, como a trombofilia, resistência à insulina, distúrbios da tireoide, entre outros. Seus princípios podem incluir discordância inexplicável de uma grande série, muito mais dos que podem não ser sujeitos às ações dos níveis séricos e do FF de VTD (JEREMIC *et al.*, 2021).

Informações apresentadas em pesquisas científicas apontaram que a VTD

pode ter relação na patogenia e prevenção da endometriose, fazendo uma correlação entre o status da VTD e as taxas da FIV (VOULGARIS *et al.*, 2017).

Além do que, fazer uma suplementação com a VTD nas mulheres que sofrem com SOP aperfeioou algumas disfunções relacionadas ao metabolismo, e em especial, distúrbios reprodutivos (VOULGARIS *et al.*, 2017).

No decorrer do estudo, 382 mulheres se submeteram à FIV, onde 107 tinham a infertilidade inexplicada com predomínio de 28,01%. Os critérios para inclusão e exclusão ausentou 16 pacientes para fazer a análise de mais níveis séricos, FF de VTD e características de resultados de FIV. Não foi visto diferença estática consideráveis quando compararam as concentrações de VTD no soro e no FF, no entanto, indicaram uma correlação assertiva entre os níveis de VTD do FF e a proporção de fragmentação embrionária (JEREMIC *et al.*, 2021).

Os outros dados que foram testados como, a quantidade de oócitos restaurados, de folículos perifoliculares, oócitos em metáfase II, 2pn, número de número de embriões e índice de implantação não tiveram um alcance estáticos com os níveis séricos ou FF na VTD (JEREMIC *et al.*, 2021).

O motivo pode ser a combinação entre a VTD, COS e as consequências da FIV que divergem dependendo do diagnóstico de infertilidade em uma população geral de mulheres inférteis que fazem esse procedimento. Dessa maneira, essa questão foi considerada em mulheres com SOP e endometriose, que possuem alterações nos níveis de VTD quando comparada com a da população feminina geral (JEREMIC *et al.*, 2021).

Os parâmetros de fertilidade e FIV são aperfeioados pela VTD não só em mulheres saudáveis, mas também nas que são diagnosticadas com SOP e endometriose, sendo muito relevante já que a deficiência da VTD é recorrente nessas pacientes (VÁRBÍRÓ *et al.*, 2022).

O estudo expõe uma relação relevante entre o FF da VTD e o percentual de fragmentação embrionária, levando ao entendimento que mesmo a VTD em quantidade fisiológica execute uma função relevante na acessibilidade endometrial, seu efeito estrogênico é negativo na evolução do ovócito e qualidade do embrião. Todavia, deve ser considerada as diferentes maneiras e causas de infertilidade nas inúmeras razões metabólicas e hormonais (JEREMIC *et al.*, 2021).

Os resultados desta pesquisa piloto comprovaram a efetividade das determinações séricas e do FF de VTD nas mulheres que fizeram a FIV e tinham a infertilidade inexplicada. Mesmo que existam muitas causas que possam levar a esterilidade, esses dados são importantes, pois a falta de VTD pode justificar alguns casos sem explicação da infertilidade ou ajudar nos resultados de outras causas (JEREMIC *et al.*, 2021).

Sendo assim é indispensável analisar se dados já conhecidos da população mundial são apropriados para determinado tipo de paciente ou causa de esterilidade, já que ainda não existe uma condescendência comum acerca da quantidade mínima ótima de VTD para a reprodução e fertilidade feminina, ao mesmo tempo que, a escolha do status de VTD que fazem a FIV ainda é uma questão a ser mais estudada (VOULGARIS *et al.*, 2017; JEREMIC *et al.*, 2021).

### **3.3 Influência dos níveis de vitamina D nos resultados da fertilização in vitro em ciclos doador-receptor**

Rudick *et al.* (2014) fez um estudo de coorte retrospectivo com 99 receptores de ovócitos para a doação, com substitutos que se submeteram ao seu doador o óvulo para a FIV, com o objetivo de examinar a função da VTD na fecundação, averiguando a conexão entre os valores de VTD do receptor e os índices de gravidez em ciclos de FIV (RUDICK *et al.*, 2014).

Os doadores de ovócitos fizeram a estimulação ovariana, começando com o FSH recombinante isolado ou uma associação com hMG. Com isso, as relações foram efetuadas segundo a resposta do paciente e a qualidade da VTD do paciente foi medida analisando os níveis circulantes de 25(OH)D, que foram congelados para o seu armazenamento e as amostras de soro por radioimunoensaio (DiaSorin) (RUDICK *et al.*, 2014).

Os resultados expõem que o status de VTD do receptor teve uma relação com o êxito da FIV do doador, onde os índices de gravidez tiveram um aumento de 37% nos que tinham deficiência de VTD para 78% nos que não tinham, aumento de 31% para 59% nos nascidos vivos. Não houve distinção nas taxas de gravidez clínica ajustada, entre os nascidos vivos de receptores que eram deficientes em VTD contra

os que tinha insuficiência da VTD, propondo que é uma consequência mais de iniciação do que sucessiva, em que a condição íntegra é a finalidade nesses pacientes (RUDICK *et al.*, 2014).

Fundamentos biológicos levaram ao entendimento que a VTD age por meio do endométrio para induzir a ocorrência da FIV. A participação da VTD está vinculada com comunicação cruzada entre o endométrio e o embrião, pelo feedback da interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) que é secretada pelos blastocistos, já as células dendríticas endometriais e os macrófagos forma a 1-alfa hidroxilase e calcitriol (RUDICK *et al.*, 2014).

O calcitriol se associa ao VDR no endométrio para controlar os genes alvos, como a calbindina, osteopontina e HOX10A, genes críticos para a implantação embrionária e placentária. E o calcitriol pode ser preferivelmente escolhido para pacientes que são inférteis e possuem a deficiência da vitamina, porque ele é capaz de favorecer o deslocamento do cálcio na placenta, excitar a expressão do lactogênio, contribuir na decidualização do endométrio e fazer o equilíbrio da expressão do gene HOXA10 durante a fertilização (RUDICK *et al.*, 2014; ZHOU *et al.*, 2022).

Há um paralelo entre a manifestação endometrial do HOX10A e o canal de sinalização da vitamina, tendo o aumento dos dois na metade do ciclo um pouco antes da implantação prevista no instante da máxima diferenciação endometrial (RUDICK *et al.*, 2014).

A deficiência da VTD tem ação na decidualização, implantação, expressão do hPL (expressão do lactogênio placentário humano), secreção do hCG, níveis de progesterona e estrógeno, absorção de cálcio na placenta e respostas imunes placentárias (VÁRBÍRÓ *et al.*, 2022).

A forma ativa da VTD constatou uma interferência na geração de citocinas nas células endometriais inteiras que são isoladas de mulheres com histórico de aborto frequente, induzindo cientistas a teorias que a VTD pode executar uma função para o tratamento de abortos recorrentes (RUDICK *et al.*, 2014).

Um decréscimo expressivo da VTD materna possui relação com distúrbios embrionários, com isso os indícios de partos prematuros naturais se elevam na deficiência materna da VTD (VÁRBÍRÓ *et al.*, 2022).

As informações relatadas no estudo levaram uma assistência clínica aos

indícios progressivos que a VTD pode realizar papel significativo nas gestações de FIV, provavelmente por causa de seus efeitos no endométrio. Apesar desse possível benefício, mulheres podem cogitar em fazer o uso de suplementação da vitamina para vantagens gerais como, saúde da gravidez e a diminuição dos riscos de doenças crônicas (RUDICK *et al.*, 2014).

Concluindo, quando se tem um melhoramento da gravide química por conta da suplementação da VTD, há um aumento significativo das chances de sucesso nos ciclos de FIV nas mulheres estéreis com carência da VTD. Contudo é importante dizer, que mais estudos devem ser feitos para esclarecer o mecanismo que a VTD exerce na interferência do sucesso da FIV e especificar se a reposição das reservas da vitamina melhora as taxas de gravidez (RUDICK *et al.*, 2014; ZHOU *et al.*, 2022).

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devido ao aumento dos números de casos de infertilidade, a FIV se tornou uma importante ferramenta para obter uma gestação segura e um procedimento muito procurado atualmente. Cientistas têm encontrado diversas finalidades da vitamina D na reprodução humana, por isso se tem a associação dessa vitamina com a FIV, mas a correlação entre os dois ainda é bastante discutida, já que existe bastante controvérsia entre os estudos.

#### REFERÊNCIAS

BALDINI, D.; MALVASI, A.; KOSMAS, I.; BALDINI, G.M.; SILVESTRIS, E.. Increased bioavailability of Vitamin D improved pregnancy outcomes in in vitro fertilization cycles, only in patients over 36 years: a cross-sectional study. **European Review For Medical And Pharmacological Sciences**, [S.L.], v. 25, n. 15, p. 4964-4972, ago. 2021. Verduci Editore s.r.l.. [http://dx.doi.org/10.26355/eurrev\\_202108\\_26453](http://dx.doi.org/10.26355/eurrev_202108_26453).

BORKOWSKI J, GMYREK GB, MADEJ JP, NOWACKI W, GOLUDA M, GABRYS M, STEFANIAK T, CHELMONSKA-SOYTAA. Avaliação sérica e peritoneal da proteína de ligação à vitamina D em mulheres com endometriose. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2008; 62: 103-9.

CIEPIELA, P; DULEBA, AJ.; KOWALECZKO, E; CHEŁSTOWSKI, KI; KURZAWA, R. Vitamin D as a follicular marker of human oocyte quality and a serum marker of in vitro fertilization outcome. **Journal Of Assisted Reproduction And Genetics**, [S.L.],

v. 35, n. 7, p. 1265-1276, 17 maio de 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10815-018-1179-4>

COSTA, TLR; OLIVEIRA, YV; FERREIRA, JCS. A relação dos nutrientes essenciais que auxiliam no processo de fertilização da mulher / The relationship of essential nutrients that help in the women's fertilization process. **Brazilian Journal Of Health Review**, [S.L.], v. 4, n. 6, p. 23714-23735, 3 nov. 2021. South Florida Publishing LLC. <http://dx.doi.org/10.34119/bjhrv4n6-004>.

DASTORANI, M; AGHADAVOD, E; MIRHOSSEINI, N; FOROOZANFARD, F; MODARRES, SZ; SIAVASHANI, MA; ASEMI, Z. The effects of vitamin D supplementation on metabolic profiles and gene expression of insulin and lipid metabolism in infertile polycystic ovary syndrome candidates for in vitro fertilization. **Reproductive Biology And Endocrinology**, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 1-7, 4 out. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12958-018-0413-3>.

ESKEW, AM.; JUNGHEIM, ES.. A History of Developments to Improve in vitro Fertilization. **Missouri Medicine**. Missouri, p. 156-159. May-Jun 2017 2017.

Hahn S, HU, Tan S, Quadbeck B, Schmidt M, Roesler S, et al. Baixas concentrações séricas de 25-hidroxivitamina D estão associadas à resistência à insulina e obesidade em mulheres com síndrome dos ovários policísticos. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2006; 114(10): 577-83.

JEREMIC, A; MIKOVIC, Z; SUDAR-MILOVANOVIC, E; ISENOVIC, E; PEROVIC, M. Follicular and serum levels of vitamin D in women with unexplained infertility and their relationship with in vitro fertilization outcome: an observational pilot study. **Archives Of Medical Science**, [S.L.], v. 17, n. 5, p. 1418-1422, 17 ago. 2021. Termedia Sp. z.o.o.. <http://dx.doi.org/10.5114/aoms/141185>.

KL, Hu; K, Gan; R, Wang, et al., Suplementação de vitamina D antes da fertilização in vitro em mulheres com síndrome dos ovários policísticos: um protocolo de um ensaio clínico multicêntrico randomizado, duplo-cego, controlado. **Bmj Open**. Reino Unido, p. 1-6. 08 dez. 2020.

MAKUCH, MY; FILETTO, JN. PROCEDIMENTOS DE FERTILIZAÇÃO IN VITRO: EXPERIÊNCIA DE MULHERES E HOMENS. **Psicologia em Estudo**, Maringá, v. 15, p. 771-779, 10 nov. 2012.

MCGOVERN, PG.. Is Vitamin D important for in vitro fertilization success? **Fertility And Sterility**, [S.L.], v. 114, n. 5, p. 962-962, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.08.009>.

MERHI ZO, SEIFER DB, WEEDON J, ADEYEMI O, HOLMAN S, ANASTOS K, et al. Circulating vitamin D correlates with serum antimullerian hormone levels in latereproductive-

aged women: women's interagency HIV study. *Fertil Steril* 2012;98:228–34.

NODLER, JL; DIVASTA, AD; VITONIS, AF; KAREVICIUS, S; MALSCH, M; SARDA, V; FADAYOMI, A; HARRIS, HR; A MISSMER, S. Suplementação com vitamina D ou ácidos graxos ômega 3 em adolescentes e mulheres jovens com endometriose (SAGE): um estudo duplocego, randomizado, controlado por placebo. **American Society For Nutrition**, [s. l], p. 229-236, 26 maio de 2020.

ROCHA, KNS; OLIVEIRA, MA; SILVA, FA; SILVINO, MES; BORGONOVI, BMF; BRANCO NA; ROMAGNOLI, AA; MORAES, LI. Atualizações sobre a fertilização in vitro para reprodução humana. **Brazilian Journal Of Health Review**. Curitiba, p. 3081-3100. 15 fev. 2022.

RODRIGUES, CALS; SANTOS, V; LOPES, Barbosa; AZZOLINI, CR; BORTOT, DC. FERTILIZAÇÃO IN VITRO (FIV) – REVISÃO DE LITERATURA. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, v. 12, n. 76, p. 1-4, jan. 2009. Semestral.

ROSAN, PL; ROMÃO, GS; REIS, RM; MOURA, MD; FERRIANI, RA. Uso de antagonista de GnRH (cetorelix) em dose única para evitar ovulações prematuras em ciclos de fertilização assistida. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, [S.L.], v. 25, n. 8, p. 563-569, set. 2003. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-72032003000800004>.

RUDICK, BJ; INGLES, SA; CHUNG, K; STANCZYK, FZ.; PAULSON, RJ.; BENDIKSON, KA.. Influence of vitamin D levels on in vitro fertilization outcomes in donor-recipient cycles. **Fertility And Sterility**, [S.L.], v. 101, n. 2, p. 447-452, fev. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.10.008>.

SILVA, DCB; SANTOS, JC; COSTA, NN; SILVA, DAV; SILVA, ACL; SILVA, J B; MATIAS, JG; LIMA, PMP; RAMALHO, ACA; SILVA, PMB. Evidências da influência da vitamina D com a fertilidade feminina: uma revisão sistemática. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, [S.L.], v. 12, n. 12, p. 1-10, 4 dez. 2020. Revista Eletronica Acervo Saude. <http://dx.doi.org/10.25248/reas.e4878.2020>.

SKOWRONSKA, P=; PASTUSZEK, E; KUCZYŃSKI, W; JASZCZOŁ, M; KUĆ, P; JAKIEL, G; WOCIĄWEK-POTOCKA, I; ŁUKASZUK, K. The role of vitamin D in reproductive dysfunction in women – a systematic review. **Annals Of Agricultural And Environmental Medicine**, Lublin, v. 23, n. 4, p. 671-676, abr. 2016. Quarterly. DOI <https://doi.org/10.5604/12321966.1226865>.

SOUZA, KKPC; ALVES, OF. AS PRINCIPAIS TÉCNICAS DE REPRODUÇÃO HUMANA ASSISTIDA. **Saúde & Ciência em Ação**: Revista Acadêmica do Instituto de Ciências da Saúde, [S. L.], v. 2, n. 1, p. 26-35, jan/jul. 2016.

TROUNSON, A. Development of in vitro fertilization in Australia. **Fertility And**

**Sterility**, [S.L.], v. 110, n. 1, p. 19-24, jul. 2018. Elsevier BV.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.02.126>.

VÁRBÍRÓ, S; TAKÁCS, I; TŐÖ, L; NAS, K; SZIVA, RE; HETTHÉSSY, JR; TÖRÖK, M. Effects of Vitamin D on Fertility, Pregnancy and Polycystic Ovary Syndrome—A Review. **Nutrients**, [S.L.], v. 14, n. 8, p. 1649, 15 abr. 2022. MDPI AG.  
<http://dx.doi.org/10.3390/nu14081649>. (VÁRBÍRÓ et al., 2022).

VOULGARIS, N; PAPANASTASIOU, L; PIADITIS, G; ANGELOUSI, A; KALTSAS, G; MASTORAKOS, G; KASSI, E. Vitamin D and aspects of female fertility. **Hormones**, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 05-21, 12 maio 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.14310/horm.2002.1715>.

WOLFF, P. **Cresce o número de fertilização in vitro – FIV no Brasil**. Disponível em: <https://clinicagenics.com/cresce-fertilizacao-in-vitro-no-brasil/>. Acesso em: 02 jun. 2023.

ZHOU, X; WU, X; LUO, X; SHAO, J; GUO, D; DENG, B; WU, Z. Effect of Vitamin D Supplementation on In Vitro Fertilization Outcomes: a trial sequential meta-analysis of 5 randomized controlled trials. **Frontiers In Endocrinology**, [S.L.], v. 13, p. 1-10, 17 mar. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2022.852428>.

# SÍNDROMES DEMENCIAIS: UMA EPIDEMIA MODERNA

## DEMENTIA SYNDROMES: A MODERN EPIDEMIC

Anna Caroline Rodrigues França Arrabaça<sup>1</sup>

Julia Beninni Ló<sup>2</sup>

Anna Julia de França<sup>3</sup>

Leonardo Magalhães<sup>4</sup>

Carolina Batista Ariza Tamarozzi<sup>5</sup>

Anelise Franciosi<sup>6</sup>

252

### RESUMO

As síndromes demenciais representam um desafio diagnóstico significativo na prática médica devido à sua natureza complexa e à sobreposição de sintomas comuns a várias condições. A dificuldade em diferenciar entre doenças como a doença de Alzheimer, a demência Frontotemporal, a demência com Corpos de Lewy e demência Vascular é agravada pelo fato de que muitos pacientes apresentam sintomas inespecíficos, como perda de memória, confusão e mudanças comportamentais. Além disso, a subnotificação dessas condições é um problema persistente, uma vez que muitos pacientes e suas famílias relutam em buscar ajuda profissional devido ao estigma associado à demência. Isso resulta em um subdiagnóstico generalizado, com muitos casos não sendo adequadamente documentados e/ou tratados. A conscientização pública e a capacitação dos profissionais de saúde para identificar e diagnosticar precocemente as síndromes demenciais são fundamentais para mitigar esses desafios. À medida que a população envelhece, o impacto das síndromes demenciais na saúde pública continua a crescer, tornando ainda mais crucial a melhoria da detecção e da abordagem clínica dessas condições debilitantes.

**Palavras-chave:** síndromes demenciais; diagnóstico precoce; doença de Alzheimer; perda de memória.

### ABSTRACT

Dementia syndromes represent a significant diagnostic challenge in medical practice due to their complex nature and overlapping symptoms common to several conditions. The difficulty in differentiating between diseases such as Alzheimer's disease, Frontotemporal dementia, Lewy Body dementia and Vascular dementia is compounded by the fact that many patients presents non-specific symptoms such as memory loss, confusion and behavioral changes. Furthermore, underreporting of these conditions is a persistent problem, as many patients and their families are reluctant to seek professional help due to the stigma associated with dementia. This results in widespread underdiagnosis, with many cases not being adequately documented and/or treated. Public awareness and training of health professionals to identify and diagnose dementia syndromes early are essential to mitigate these challenges. As the population ages, the public health impact of dementia syndromes continues to grow, making improved detection and clinical management of these debilitating conditions

even more crucial.

**Keywords:** Dementia syndromes; early diagnosis; Alzheimer's disease; memory loss.

## 1 INTRODUÇÃO

Não é de hoje que se observam diversos novos estudos sobre a mudança na estrutura etária que o Brasil sofrerá nos próximos anos. O avanço da medicina assegurou que a saúde e o estilo de vida das populações se mantivessem em um nível satisfatório ao ponto de que a expectativa de vida destas aumentasse cada vez mais. Somando as condições demográficas atuais de baixa mortalidade, taxas de fecundidade caindo cada vez mais e aumento da expectativa de vida, estima-se que o número de idosos cresceu quase 40% em período entre 2012 e 2021 (Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios – IBGE, 2022).

À medida em que a população envelhece, mais comum tornam-se as doenças neurodegenerativas, uma vez que é típico de integrantes da terceira idade apresentarem demência durante essa fase da vida. De acordo com o relatório “*Global status report on the public health response to dementia*”, desenvolvido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para monitorar a progressão do número de casos e as políticas de assistência em saúde, o mundo contabiliza mais de 55 milhões de pessoas vivendo com demência (*Global status report on the public health response to dementia* – WHO, 2021), desses, 8,1% são mulheres e 5,4% são homens com mais de 65 anos. Estudos revelam que quanto mais se vive, maior é o declínio das atividades fisiológicas e cognitivas. Embora, muitas vezes, essas alterações não comprometam a vida cotidiana, há o aumento exponencial da incidência e prevalência de processos demenciais com o envelhecimento (AGÜERO-TORRES *et al.*, 1998; FRATIGLIONI; DE RONCHI; TORRES, 1999; JORM; KORTEN; HENDERSON, 1987).

As doenças neurodegenerativas são processos de degeneração celular que ocorrem nos neurônios. Trata-se do acúmulo de substâncias no meio intra ou extracelular, causando prejuízos tanto para a célula quanto para o tecido. No caso, a natureza das substâncias em acúmulo é proteica, e essas proteínas anormais caracterizam o transtorno de maneira singular. Geralmente, as degenerações tendem a atingir regiões específicas do Sistema Nervoso Central (SNC), podendo,

posteriormente, evoluir para outras regiões. Ou seja, determinada doença afeta determinado subtipo de neurônio e, este, por sua vez, tem sua área no encéfalo bem delimitada. Ao passo que a doença evolui, outras regiões e outros neurônios podem ser prejudicados, induzindo à um maior comprometimento do paciente (MISULIS; HEAD, 2008; LENT, 2008; PURVES *et al.*, 2010; BEAR; CONNORS; PARADISO, 2017; CURI; PROCOPIO, 2017).

Portanto, é justo afirmar que com o passar do tempo, haverá cada vez mais pessoas com condições limitadas de suas capacidades cognitivas, caracterizadas com demência. No Brasil, estima-se que mais de 1,4 milhão de pessoas vivem com demência, e esse número pode chegar a 6 milhões em 2050 (Academia Brasileira de Neurologia – ABN, 2021). Essa tendência acende um alerta para a necessidade de que o Brasil prepare seu sistema de saúde para atender ao grande contingente de pessoas que precisará de assistência médica. Os números revelam a necessidade de preparo aprimorado ao lidar com essas patologias, seus sintomas e seus diagnósticos, visto a alta demanda que pode estar à frente de sociedade. O envelhecimento da população requer profissionais capacitados e dotados de ferramentas de diagnósticos eficazes para lidar com os males da terceira idade. É de interesse da saúde pública, que se desenvolva técnicas para o diagnóstico preciso dessas doenças, para que o tratamento ocorra de maneira ideal (OMS, 2021).

O presente trabalho pretende estabelecer maior compreensão do comportamento celular e estrutural do Sistema Nervoso, bem como do funcionamento neurológico, bioquímico e fisiológico dos mesmos em doenças neurodegenerativas, almeja-se desenvolver ferramenta de diagnóstico clínico, à fim de auxiliar na investigação, diagnose e no tratamento do doente, para refrear erros de diagnóstico e/ou subnotificação.

## **2 METODOLOGIA**

O presente trabalho foi realizado por meio de uma revisão bibliográfica sistemática, sendo este o processo de coletar, conhecer, compreender, analisar, sintetizar e avaliar um conjunto de artigos científicos com o propósito de criar um embasamento teórico-científico acerca das doenças neurodegenerativas. Para isso foram utilizados artigos disponíveis em bases de dados online como Pubmed e Scielo nos últimos 30 anos.

## 3 DESENVOLVIMENTO

### 3.1 A Demência

A demência é uma condição caracterizada por vários comprometimentos cognitivos, indo além da mera perda de memória e aprendizado. Inicialmente, a memória é afetada, principalmente, a capacidade de memorização recente, levando a amnésia anterógrada, na qual a pessoa tem dificuldades em lembrar de eventos recentes. À medida que a doença progride, a memória remota também é prejudicada (BYNUM *et al.*, 2004; NITRINI *et al.*, 2005; CLODOMIRO *et al.*, 2013; DSM-5 *et al.*, 2014; DI TOMMASO *et al.*, 2016; FREITAS *et al.*, 2017).

Distúrbios de linguagem são frequentemente observados, manifestando-se na dificuldade de nomear objetos, com substituição de sílabas ou fonemas, e na diminuição da fluência verbal. Alterações na escrita também podem ser notadas, embora seja importante considerar o nível de alfabetização e educação do paciente, pois o contexto de vida pode afetar a habilidade de escrita (BYNUM *et al.*, 2004; NITRINI *et al.*, 2005; CLODOMIRO *et al.*, 2013; DSM-5 *et al.*, 2014; DI TOMMASO *et al.*, 2016; FREITAS *et al.*, 2017).

A capacidade de atenção, fundamental para a realização de tarefas diárias como cozinhar ou estudar, também é pode sofrer comprometimento. A atenção pode ser sustentada, dividida ou seletiva, e sua deterioração impacta a capacidade de aprender e executar tarefas (BYNUM *et al.*, 2004; NITRINI *et al.*, 2005; CLODOMIRO *et al.*, 2013; DSM-5 *et al.*, 2014; DI TOMMASO *et al.*, 2016; FREITAS *et al.*, 2017).

As agnosias representam dificuldade em reconhecer elementos, podendo se manifestar na orientação topográfica, resultando em situações em que o paciente se perde em locais familiares. Em estágios avançados, ocorre o não reconhecimento de membros da família e pessoas próximas, caracterizando alterações perceptomotoras (BYNUM *et al.*, 2004; NITRINI *et al.*, 2005; CLODOMIRO *et al.*, 2013; DSM-5 *et al.*, 2014; DI TOMMASO *et al.*, 2016; DE FREITAS *et al.*, 2017).

As funções executivas, responsáveis pelo planejamento de atividades e organização de tarefas diárias, como horários para refeições, são prejudicadas. Por fim, a cognição social, que envolve a percepção de si e dos outros e o entendimento do funcionamento social, também é afetada, muitas vezes resultando em uma perda de empatia e mudanças emocionais significativas (BYNUM *et al.*, 2004; NITRINI *et al.*,

2005; CLODOMIRO *et al.*, 2013; DSM-5 *et al.*, 2014; DI TOMMASO *et al.*, 2016; FREITAS *et al.*, 2017).

### 3.2 Síndromes Demenciais do Ponto de Vista Molecular

A Doença de Alzheimer (DA), um dos focos do estudo, é uma doença neurodegenerativa progressiva, descrita pelo comprometimento gradativo da memória e declínio severo da cognição, associados com a degradação de neurônios colinérgicos em muitas áreas do Sistema Nervoso Central (SNC) (VIEGAS *et al.*, 2011), especialmente o hipocampo e neocórtex (SHANKAR *et al.*, 2007), acompanhada de grande redução de neurotransmissores, entre os quais se destaca a Acetilcolina (ACh) (VIEGAS *et al.*, 2011). É caracterizada pela presença de placas senis, emaranhados neurofibrilares, excitotoxicidade glutamatérgica, lesão e morte celular. O Alzheimer é o tipo mais comum de demência, sendo atribuíveis 60 a 80% dentre as 47 milhões de pessoas em todo o mundo acometidas pela demência, afetando cerca de 25 milhões de pessoas no mundo (CÂMARA *et al.*, 2019).

Sua evolução normalmente apresenta 3 fases: inicia-se por lapsos esporádicos de memória, esquecimento e confusão, perda de interesse por atividades antes prazerosas e dificuldade na organização de pensamentos e na compreensão de novas informações. Depois, o paciente passa a demonstrar esquecimento de detalhes de eventos diários e de seu passado, perde consciência de seu estado, apresentando dificuldade de exercer tarefas cotidianas, como vestir-se e alimentar-se, podendo ter alterações comportamentais e/ou emocionais. Na terceira fase o paciente passa a depender de cuidados permanentes, apresenta dificuldade em se comunicar e reconhecer familiares (VIEGAS *et al.*, 2011).

A placas senis são compostas principalmente pela proteína  $\beta$ -amilóide (AB), produzidas por secretases da membrana glicoproteica, a partir da proteína precursora amiloide (APP). A quebra da APP pelas  $\alpha$ -secretases, em seu metabolismo não-amiloidogênico, inibe a formação de depósitos de AB. Os fragmentos formados aqui promovem a inibição de inflamação neuronal, da adesão célula-substrato e são neuroprotetores. Contrariamente, a proteólise mediada por  $\beta$  e  $\gamma$ -secretases, libera fragmentos insolúveis de AB, com predisposição à agregação e formação de fibrilas (VIEGAS *et al.*, 2011; DALMARGO *et al.*, 2020).

É demonstrado que a concentração de dímeros e trímeros de AB leva à perda

sináptica progressiva no hipocampo: oligômeros de AB diminuem o fluxo de  $\text{Ca}^{++}$  através do receptor NMDA (SHANKAR *et al.*, 2007). Ademais, exames bioquímicos apontam mutações nos genes prenilina 1 e/ou 2, responsáveis pela codificação da APP. Todas essas constatações convergem ao fato de que o acúmulo de placas  $\beta$ -amilóides leva à agregação da Tau hiperfosforilada e emaranhados neurofibrilares (DALMARGO *et al.*, 2020).

A proteína Tau é associada aos microtúbulos, sua hiperfosforilação tem consequência nas funções biológicas e morfológicas dos neurônios, por alterarem sua função primária, induzindo a diminuição da capacidade da proteína Tau de estabilizar os microtúbulos, comprometendo os transportes intraneuronais (VIEGAS *et al.*, 2011). No Alzheimer, a proteína se separa dos microtúbulos e atua de forma desorganizada, obstruindo os mesmos (RODRIGUES *et al.*, 2022).

A excitotoxicidade é uma neurodegeneração causada por aminoácidos excitatórios. No SNC, o glutamato (L-Glu) é o principal e mais abundante neurotransmissor excitatório. Um dos receptores glutamatérgicos, o NMDA, está envolvido com a neurotoxicidade. Estes se localizam na membrana pós-sináptica das sinapses excitatórias e exibem maior permeabilidade ao  $\text{Ca}^{++}$ . Concentrações excessivas de L-Glu na fenda sináptica resultam na superestimulação de seus receptores e entrada excessiva de  $\text{Ca}^{++}$  no terminal pós-sináptico, que somadas à liberação do íon armazenado nas reservas intracelulares, elevam sua concentração acima do limiar ativador de mecanismos regulatórios, ativando os mecanismos intracelulares de excitotoxicidade e culminando na morte neuronal (RUGGIERO *et al.*, 2011).

Vários estudos demonstraram que a DA está relacionada com redução nas taxas de ACh, entre outros neurotransmissores. O sistema colinérgico é responsável por modular importantes funções neurais, sendo envolvido em processos como aprendizado, memória, atenção, resposta ao estresse, vigilância e sono e informação sensorial. A ACh é sintetizada no citoplasma dos neurônios colinérgicos, pela enzima acetiltransferase (CAT) e transportada através de vesículas até os terminais sinápticos. A deficiência de ACh ocorre por atrofia dos núcleos basais de Meynert, estruturas responsáveis pela produção da CAT, e déficits na transmissão colinérgica podem potencialmente influenciar todos os aspectos da cognição e comportamento, incluindo processamento de informação cortical e hipocampal. A ACh liberada na fenda sináptica é rapidamente degradada em colina e acetato, pela enzima

acetilcolinesterase (AChE). Segundo estudos, esta enzima interage com a AB e promove a formação de fibrilas de amiloides. Inibidores de AChE são utilizados como tratamento da doença de Alzheimer (FERREIRA-VIEIRA *et al.*, 2016).

A Degeneração Lobar Frontotemporal (DLFT) é uma síndrome clínica que, como o próprio nome já diz, agride a região frontal e temporal do cérebro. Essas áreas são responsáveis por funções como cognição, forma visual e movimentos oculares, memória semântica, auditiva e interativa, formação de palavras, leitura, pensamento e planejamento do movimento, olfato, comportamento e emoções (SANTOS *et al.*, 2002). Desta maneira, entende-se que a DLFT afeta diretamente as funções cognitivas do paciente, isto porque essa patologia se caracteriza pela perda de células nervosas nos lobos frontal e temporal do cérebro, provocando uma atrofia nessas regiões, isto é, um processo adaptativo que altera o tamanho das células devido a redução da atividade metabólica. Essa degeneração apresenta também um achado clínico histopatológico chamado de Corpos de Pick, formado a partir do acúmulo da proteína Tau (GAUTHIER *et al.*, 2021).

Diferente das outras demências, a DLFT acomete pessoas geralmente mais novas, por volta dos 40 anos, não excluindo a possibilidade de afetar pessoas ainda mais jovens ou mais velhas. Muitas vezes, por estar associado a idade, o diagnóstico dessa síndrome é feito de forma tardia, tendo em vista que, por negligência, é descartada a possibilidade de afetar jovens adultos (GAUTHIER *et al.*, 2021).

Essa síndrome demencial possui, atualmente, 3 variantes conhecidas, sendo a primeira a comportamental, na qual ocorrem alterações no comportamento e na personalidade do portador, influenciando nas suas condutas sociais. A segunda é a demência semântica, que causa um prejuízo no discernimento de palavras e objetos. E a terceira é a afasia progressiva não-fluente que causa danos à fluência verbal dificultando a compreensão de frases grandes e/ou complexas e uso incorreto da gramática (GAUTHIER *et al.*, 2021; RIOS *et al.*, 2017).

Nesse contexto, estudos genéticos concluíram que na variante comportamental da DLFT, cerca de 30% a 50% dos pacientes precediam um histórico familiar, enquanto nas demais variantes o histórico familiar era baixo. Posto isso, entende-se que essa degeneração está associada também a fatores genéticos (JOSVIK *et al.*, 2015).

As alterações microscópicas causadas nessa degeneração, como os Corpos de Pick, estão associadas a mutações dos genes MAPT – *microtubule associated*

*protein tau* – gene que codifica a proteína Tau. A proteína Tau é a responsável pelo achado histopatológico (CP), pois este é formado a partir dos filamentos anormais insolúveis dessa proteína originados por consequência de uma disfunção. Segundo Nalini “A frequência das mutações no gene MAPT varia entre 0% e 17% quando não há caso familiar; porém, quando há história familiar, essa frequência aumenta de 7,6% a 50% (JOSVIK *et al.*, 2015). Desse modo, o acúmulo intracelular da proteína Tau é um importante marcador biológico para o diagnóstico da patologia em questão (JOSVIK *et al.*, 2015).

Visto que, as doenças citadas são de difícil diagnose, contribuindo para a ineficácia do tratamento, há a necessidade da melhora dos métodos de diagnóstico, para que o quadro clínico seja estabelecido de maneira satisfatória, o que irá refletir no tratamento e na progressão da doença.

A Demência com Corpos de Lewy é uma síndrome clínica caracterizada pela presença de corpúsculos intracitoplasmáticos neuronais, esféricos e de caráter eosinofílico. São formados por agregados de proteínas dentro das células, como as proteínas neurofilamentares, a Ubiquitina e a  $\alpha$ -sinucleína, sendo esta a principal suspeita da formação de CL, contudo, fatores genéticos e/ou epigenéticos são os possíveis responsáveis pelo surgimento dos CL nos neurônios (TEIXEIRA-JR *et al.*, 2005).

Esse achado clínico é encontrado de forma distribuída e difusa no córtex cerebral e nos núcleos monoaminérgicos, ou seja, são originados do tronco encefálico, modulando e integrando atividades corticais e subcorticais, bem como a atividade psicomotora, humor, apetite e sono. No entanto, esses corpúsculos também podem estar localizados fora dos neurônios. As áreas de predileção dos CL são tronco encefálico, núcleos subcorticais, córtex límbico e o neocórtex, posto que, são encontrados no encéfalo de pacientes que apresentam perda regional de neurônios e, conseqüentemente, perda sináptica, déficit de neurotransmissores e microvacuolização (TAVARES *et al.*, 2003).

Essa demência é marcada pela presença de parkinsonismo espontâneo, episódios frequentes de quedas ou síncope, isto é, súbita perda da consciência, alucinações visuais recorrentes provenientes de flutuação cognitiva com períodos de confusão e ausência de respostas a perguntas em questão de minutos ou horas, como também bradicinesia e rigidez, comprometimento grave ou persistente da memória, não ocorrendo necessariamente nas fases iniciais da DCL, mas evidente conforme a

evolução na maioria dos casos (TAVARES *et al.*, 2003).

Pelo fato de ter sinais clínicos compatíveis com a Doença de Alzheimer e Parkinson, a expressão “demência com corpos de Lewy” foi proposta recentemente, sendo classificada como a terceira causa mais frequente de demência em autópsias realizadas em centros de pesquisa. Pesquisadores observaram que cerca de 15% a 25% dos cérebros analisados de pacientes idosos com demência possuíam estes achados histopatológicos fundamentais para o diagnóstico de DCL no tronco cerebral e no córtex (TAVARES *et al.*, 2003).

Segundo dados de 2012 da Organização Mundial de Saúde (OMS), aproximadamente 35 milhões de pessoas sofrem de demência no mundo, sendo que, destes, mais de 1 milhão de pacientes são brasileiros, colocando o Brasil na 9ª posição de país com o maior número de casos. Entre os diagnosticados, cerca de 10% são portadores de demência com corpos de Lewy (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

A importância do diagnóstico correto para a DCL é essencial em virtude da terapia farmacológica, ou seja, a administração de medicamentos que atuarão nos neurotransmissores no cérebro, para que o paciente diagnosticado seja devidamente beneficiado com o tratamento (TAVARES *et al.*, 2003).

A Demência Vascular (DV) é o termo usado para se referir ao grupo de demências causadas por doença cerebrovascular. As lesões cerebrovasculares abrangem os tipos hemorrágicos e isquêmicos, que se apresentam de formas variáveis, sem a existência de uma lesão neuropatológica única para o diagnóstico do quadro. Entre os possíveis eventos que contribuem para a ocorrência da DV, pode-se citar as alterações na cascata de coagulação, perda da integridade da substância branca com consequente desconexão entre áreas estratégicas para redes cognitivas e alterações nas células endoteliais, que modificam a perfusão sanguínea cerebral. (BARBOSA *et al.*, 2022)

A expressão sintomatológica na DV está intimamente relacionada com as características das lesões, como número, localização e extensão. Entre os sintomas mais comuns, está o comprometimento cognitivo, com declínio progressivo da função executiva e da velocidade de processamento de informações e atenção complexa. Também, pode haver dificuldades de linguagem e memória, afasia, apraxia, diminuição do campo visual e alguns sintomas neuropsiquiátricos (WONG; CHANG, 2022).

As áreas afetadas na demência vascular são heterogêneas, relacionadas aos

locais das lesões existentes. No entanto, as regiões mais comumente afetadas incluem o córtex pré-frontal, o córtex parietal, o córtex temporal e a substância branca subcortical (GODEFROY *et al.*, 2013). Outras áreas também podem ser afetadas, como os gânglios da base, o tálamo e o hipocampo (SANTO *et al.*, 2018).

A DV possui dificuldade em estabelecer dados como prevalência e fatores de risco, por conta da falta de padronização dos critérios diagnósticos. Numa tentativa de listar os possíveis fatores de risco, há uma divisão em fatores de risco não modificáveis (idade avançada, etnia e aspectos genéticos, por exemplo), fatores de risco metabólicos e cardiovasculares clássicos (hipertensão arterial sistêmica, AVC prévio, entre outros), fatores de risco tóxicos (alcoolismo e tabagismo) e causas diversas, como sedentarismo e dieta inadequada. Apesar disso, a existência de outras variáveis, como fatores geográficos e a escassez de estudos nos países de baixa e média renda, refletem a heterogeneidade da prevalência (BARBOSA *et al.*, 2022).

Outrossim, esse tipo de demência é aceito como a segunda maior causa de demência em idosos, podendo variar de 8 a 45% dos casos (BARBOSA *et al.*, 2022). A Suécia também pode ser listada como exemplo da epidemiologia da DV, cujo risco de desenvolver a doença é de 25,1% em mulheres e 29,8% em homens (ANDRÉ, 1998).

### 3.3 Manejo Clínico

#### 3.3.1 Doença de Alzheimer

**Tabela 1** - Tríade da doença de Alzheimer. Própria Autora, 2023.

<b>AUTORES</b>	ATRI, 2019; BONDI; EDMONDS; SALMON, 2018; BREIJYEH; KARAMAN, 2020; FERREIRA-VIEIRA <i>ET AL</i> , 2016; FROTA <i>ET AL</i> , 2011; GRAFF-RADFORD <i>ET AL</i> , 2021; KHAN; BARVE; KUMAR, 2020; LEI; AYTON; BUSH, 2021; MANTZAVINOS; ALEXIOU, 2017; NASERI <i>ET AL</i> , 2019; NIETZCHE, DE MORAES; TAVARES-JUNIOR, 2015; OSSENKOPPELE <i>ET AL</i> , 2015; SCHELTENS <i>ET AL</i> , 2021; SCHILLING <i>ET AL</i> , 2022; SERRANO-POZO; DAS; HYMAN, 2021; SERY <i>ET AL</i> , 2013; SORBI; FERRARI, 2021; TIWARI <i>ET AL</i> , 2019; TORRES <i>ET AL</i> , 2012; WELLE; BUDSON, 2018.
----------------	---

<b>FISIOPATOLOGIA E NEUROPATOLOGIA</b>	A doença de Alzheimer (DA) é caracterizada pela atrofia cortical, perda de neurônios e acúmulo de peptídeo $\beta$ -amiloide e proteína Tau
--	---

hiperfosforilada no cérebro. O peptídeo  $\beta$ -amiloide é produzido por enzimas  $\beta$  e  $\gamma$ -secretases, levando à formação de placas neuríticas. Essas placas começam como oligômeros solúveis e desencadeiam inflamação. Os emaranhados neurofibrilares contêm proteína Tau hiperfosforilada e afetam inicialmente o córtex entorrinal e a formação hipocampal, espalhando-se posteriormente para áreas neocorticais associativas. O diagnóstico neuropatológico da DA depende da distribuição e quantidade dessas lesões, influenciando os sintomas clínicos da demência. As placas neuríticas se localizam principalmente nas áreas neocorticais, seguindo um padrão temporal diferente dos emaranhados neurofibrilares.

**QUADRO CLÍNICO**

A doença se manifesta gradual e progressivamente, inicialmente com déficits de memória episódica e comprometimento cognitivo leve amnésico. À medida que progride, afeta outras funções cognitivas, especialmente quando atinge as áreas neocorticais associativas. Os sintomas incluem dificuldade em lembrar eventos recentes, repetição de perguntas, perda de objetos pessoais, redução da fluência verbal, dificuldade de nomeação e desorientação espacial.

Além de problemas cognitivos, a DA pode levar a sintomas comportamentais como apatia, depressão, agitação e, em estágios avançados, alucinações, delírios e agressividade. Também afeta a capacidade funcional, especialmente em atividades instrumentais da vida diária. A anosognosia é comum, exigindo informações de familiares. Conforme a doença progride, há uma deterioração generalizada em vários domínios cognitivos, levando à dependência em atividades básicas da vida cotidiana. Sintomas neurológicos, como mioclonias, parkinsonismo e disfagia, podem ocorrer. A morte geralmente ocorre após vários anos, muitas vezes devido a complicações como pneumonia aspirativa, infecções do trato urinário com sepse ou doenças cardiovasculares.

**DIAGNÓSTICO**

O diagnóstico clínico se baseia na observação de sintomas cognitivos, comportamentais e funcionais, com exames complementares para excluir outras causas demenciais. Os exames laboratoriais incluem hemograma, creatinina e hormônio tireoestimulante (TSH). Em casos atípicos ou de início pré-senil, o exame do líquido cefalorraquidiano (LCR) é indicado. A neuroimagem estrutural, como a ressonância magnética, é usada para avaliar atrofia e dilatação ventricular.

Os biomarcadores da DA incluem a dosagem de proteínas no LCR, como tau total e tau hiperfosforilada, e a neuroimagem estrutural e a ressonância magnética pode mostrar atrofia em regiões específicas,

enquanto a tomografia por emissão de pósitrons (PET) pode revelar hipometabolismo. O PET com o radiotraçador PIB é promissor para detectar depósitos amiloides *in vivo*.

A avaliação cognitiva é crucial, com testes de rastreio, como o mini-exame do estado mental, e testes neuropsicológicos formais, principalmente em casos de comprometimento leve ou atípico. O diagnóstico clínico é o principal, mas os biomarcadores estão se tornando mais relevantes na abordagem diagnóstica da DA.

### 3.3.2 Demência com Frontotemporal

**Tabela 2** - Tríade de Demência com Frontotemporal. Própria Autora, 2023.

<b>AUTORES</b>	BANG; SPINA; MILLER, 2015; BENUSSI <i>ET AL</i> , 2022; BOEVE <i>ET AL</i> , 2022; BOTT <i>ET AL</i> , 2014; DE SOUZA <i>ET AL</i> , 2022; DUCHARME <i>ET AL</i> , 2020; GALIMBERT <i>ET AL</i> , 2015; LAMARRE <i>ET AL</i> , 2013; MARQUES; MARTINS; LOEWENTHAL, 2022; MEETER <i>ET AL</i> , 2017; OLNEY; SPINA; MILLER, 2017; PERRY <i>ET AL</i> , 2017; PIGUET; HODGES, 2013; RASCOVSKY <i>ET AL</i> , 2011; SHOWDEN <i>ET AL</i> , 2012; SWIFT <i>ET AL</i> , 2021; TAKADA, 2015; TAKADA, 2022; UCEDO; DOS SANTOS; SANTANA, 2017; WHITWELL <i>ET AL</i> , 2012.
<b>NEUROATOLOGIA E GENÉTICA</b>	<p>A Demência Frontotemporal (DLFT) é caracterizada por atrofia localizada, geralmente assimétrica, nos lobos frontais e/ou temporais, com padrões específicos de atrofia, a depender da síndrome clínica. Microscopicamente, apresenta degeneração microvacuolar, perda de células piramidais, gliose variada, perda axonal, corpúsculos de inclusão e inchaço neuronal.</p> <p>Neuropatologicamente, a DLFT é classificada em três grupos principais: DLFT-tau, DLFT-TDP e DLFT-FUS, sendo os dois primeiros mais comuns. Também existem casos de DLFT-U (com ubiquitina) e DLFT sem inclusões. Importante notar que de 10% a 30% dos casos clinicamente diagnosticados como DLFT apresentam neuropatologia de Doença de Alzheimer (DA).</p> <p>Cerca de 40% dos pacientes com DLFT têm histórico familiar de demência, com 10% a 20% apresentando herança autossômica dominante. Mutações mais comuns estão nos genes tau (MAPT) e progranulina (GRN). Mutações em outros genes (VCP, CHMP2B, TARDBP, FUS) são mais raras, correspondendo a cerca de 5% dos casos familiares de DLFT.</p>
<b>QUADRO CLÍNICO</b>	A Demência Frontotemporal (DLFT) engloba diferentes subtipos com

características clínicas distintas. O diagnóstico da DLFT é baseado em critérios clínicos, avaliação neuropsicológica e exames de imagem, devido à ausência de biomarcadores específicos. Os principais subtipos incluem:

**1. Variante Comportamental da DLFT (vcDFT):**

- Caracterizada por deterioração do comportamento social e da personalidade;
- Sintomas incluem desinibição, apatia, perda de empatia, comportamentos estereotipados, ganho de peso, consumo excessivo de alimentos, euforia, impulsividade;
- Funções executivas são afetadas, mas a memória e habilidades visuoespaciais geralmente permanecem preservadas nas fases iniciais;
- O diagnóstico se baseia em critérios clínicos, exames de imagem e análise histológica ou detecção de mutações genéticas.

**2. Afasia Primária Progressiva (APP):**

- Causa comprometimento significativo nas atividades diárias;
- Sintomas incluem perda progressiva da capacidade de falar, ler e compreender a fala dos outros;
- Três variantes: Afasia Progressiva Não-Fluente (APNF), Demência Semântica (DS) e Variante Logopênica;
- O diagnóstico é feito com base na avaliação dos principais domínios da linguagem, podendo ser clínico, com exames de imagem ou com confirmação por análise patológica.
- **Afasia Progressiva Não-Fluente (APNF):**
  - Caracterizada por deterioração na expressão da linguagem, incluindo erros gramaticais e dificuldade com frases complexas;
  - Compreensão geralmente preservada.
- **Demência Semântica (DS):**
  - Caracterizada por anomia, dificuldade na compreensão de palavras e preservação da fluência e gramática;
  - Atrofia afeta principalmente o lobo temporal esquerdo.
- **Variante Logopênica:**
  - Apresenta dificuldades na recuperação de

palavras e perda de fluência verbal, com preservação da gramática e compreensão;

- Alguns pacientes podem ter déficits na repetição de frases.

Esses subtipos da DLFT podem ser diferenciados com base nas características clínicas, cognitivas e nos achados de imagem. O diagnóstico é crucial para direcionar o tratamento e o manejo dos sintomas.

<b>DIAGNÓSTICO</b>	O diagnóstico pode ser desafiador, pois os sintomas podem se sobrepor a transtornos psiquiátricos e a declínio cognitivo de outras causas, como a doença de Alzheimer. Investigações envolvendo neuroimagem são cruciais, uma vez que os achados de imagem fazem parte dos critérios diagnósticos. Embora os critérios clínicos de diagnóstico propostos por Neary <i>et al.</i> sejam amplamente usados, eles são considerados complexos de aplicar na prática clínica devido à sua extensão e uso de termos ambíguos, demonstrando baixa sensibilidade em estudos posteriores. Atualmente, utiliza-se critérios operacionais para o diagnóstico da variante comportamental da DLFT (vcDLFT), estabelecendo níveis de certeza diagnóstica, incluindo vcDLFT possível, provável e definida, proporcionando uma abordagem mais assertiva para diagnosticar casos complexos de DLFT, diante da variabilidade dos sintomas apresentados.
--------------------	---

### 3.3.3 Demência com Corpos de Lewy

**Tabela 3** - Tríade de Demência com Corpos de Lewy. Própria Autora, 2023.

<b>AUTORES</b>	ARNAOUTOGLOU; O'BRIEN; UNDERWOOD, 2019; CAPOUCH; FARLOW; BROSCHE, 2018; CHIN; TEODORCZUK; WATSON, 2019; DA SILVEIRA, 2021; GALVIN, 2019; GOMES; DALLA-VECCHIA, 2019; JELLINGER, 2018; JELLINGER; KORCZYN, 2018; MCKEITH <i>ET AL</i> , 2017; NEGRÃO, 2014; OUTEIRO <i>ET AL</i> , 2019; PRASAD <i>ET AL</i> , 2023; ROMERO <i>ET AL</i> , 2014; RONGVE <i>ET AL</i> , 2016; SAHA; BANERJEE, 2021; SCHUMACHER <i>ET AL</i> , 2021; WALKER <i>ET AL</i> , 2012; WALKER <i>ET AL</i> , 2015; YAMADA <i>ET AL</i> , 2020.
<b>FISIOPATOLOGIA E NEUROLOGIA</b>	Caracterizada pela perda progressiva das funções cognitivas em decorrência da formação dos “corpos de Lewy”. São assim chamados pela deposição de corpos arredondados anormais de proteína nas células nervosas no córtex cerebral.
<b>QUADRO CLÍNICO</b>	A Demência com Corpos de Lewy (DCL) apresenta diferentes graus

de certeza diagnóstica: DCL definida (confirmada por exame neuropatológico), DCL provável e DCL possível. Três características principais auxiliam no diagnóstico da DCL:

1. **Parkinsonismo espontâneo:** Pacientes com DCL desenvolvem sintomas parkinsonianos, como bradicinesia e rigidez, com menos tremor, e respondem menos ao tratamento com L-dopa do que na doença de Parkinson típica.
2. **Alucinações visuais recorrentes:** Alucinações visuais são comuns na DCL e tendem a ocorrer precocemente em comparação com a doença de Alzheimer. Geralmente, essas alucinações são detalhadas e podem envolver figuras de crianças e animais inofensivos.
3. **Flutuação cognitiva:** A flutuação cognitiva manifesta-se como variações acentuadas na atenção e no nível de consciência, de curta duração e difíceis de identificar.

Características secundárias que também apoiam o diagnóstico da DCL incluem quedas frequentes, síncope, perda transitória de consciência, sensibilidade ao uso de neurolépticos, alucinações em outras modalidades sensoriais (por exemplo, auditivas) e distúrbio comportamental do sono REM. A DCL geralmente começa de forma aguda ou subaguda, apresentando parkinsonismo atípico, alucinações precoces e flutuações cognitivas, o que a diferencia da doença de Alzheimer. No entanto, a combinação de DCL e doença de Alzheimer não é incomum e pode ser desafiadora de diagnosticar. Portanto, a DCL é frequentemente subdiagnosticada, ressaltando a importância da conscientização e compreensão desta condição.

## DIAGNÓSTICO

1. **Avaliação do estado mental:** Observação de oscilações no desempenho cognitivo. As flutuações são comuns e sugerem a necessidade de considerar a possibilidade de DCL quando ocorrem. Na DCL, há comprometimento nas áreas frontais e parieto-occipitais, com preservação relativa do sistema límbico, resultando em uma memória mais bem preservada em comparação com o Alzheimer. Diferenciar DCL e demência na doença de Parkinson é desafiador devido às características clínicas semelhantes, por isso, é importante realizar testes para avaliar a atenção, as funções executivas e habilidades visuoperceptuais,
2. **Exames laboratoriais e neuroimagem:** Exames de rotina costumam ser normais, mas a tomografia computadorizada e a

ressonância magnética cerebral podem mostrar atrofia característica, menos acentuada nos hipocampos. A neuroimagem funcional, como a tomografia por emissão de fóton único (SPECT), podendo revelar redução na perfusão cerebral em áreas específicas, mais posteriormente quando comparada à doença de Alzheimer.

- 3. Biomarcadores:** A dosagem de proteínas no líquido cefalorraquidiano (LCR) têm sido estudadas, mas não são específicos o suficiente para um diagnóstico conclusivo.

### 3.3.4 Demência Vascular

**Tabela 4 - Tríade de Demência Vascular. Própria Autora, 2023.**

<b>AUTORES</b>	BARBOSA <i>ET AL</i> , 2022; BIR <i>ET AL</i> , 2021; COUCLAN <i>ET AL</i> , 2018; DOS SANTOS <i>ET AL</i> , 2017; EL-SHEIK <i>ET AL</i> , 2021; ENGELHARDT <i>ET AL</i> , 2011; GODEFROY <i>ET AL</i> , 2013; IADECOLA, 2013; JELLINGER, 2013; KALARIA, 2016; KALARIA; AKINYEMI; IHARA, 2016; KALARIA, 2018; O'BRIEN; THOMAS, 2015; PESSOA <i>ET AL</i> , 2023; SANTO <i>ET AL</i> , 2018; SMITH, 2017; SONAL; SCHNEIDER, 2012; SUDO <i>ET AL</i> , 2015; TIEL; SUDO; CALMON, 2019; WONG; CHANG, 2022.
----------------	---

<b>FISIOPATOLOGIA E NEUROLOGIA</b>	A demência vascular (DV) abrange diversas condições com causas variadas, levando a diferentes manifestações clínicas e alterações neuropsicológicas. É essencial identificar a causa específica da demência, pois isso afeta diretamente a terapêutica. A leucoaraiose, relacionada à hipertensão e fatores genéticos, é caracterizada por mudanças nos vasos cerebrais pequenos e pode afetar a cognição, especialmente em áreas como atenção, velocidade de processamento e funções executivas. No entanto, nem todos os casos de leucoaraiose resultam em comprometimento cognitivo. Os infartos cerebrais são comuns na DV, com sua localização sendo mais crucial do que o volume total da lesão, podendo provocar declínio cognitivo. A patologia da DV subcortical envolve lesões discretas, enquanto as áreas confluentes se encontram principalmente nas regiões occipitais, periventriculares e frontais. A histopatologia mostra inchaço das bainhas de mielina e consequente desmielinização, perda de oligodendrócitos e cavitação, afetando as fibras de associação subcorticais. Os infartos corticais também podem ocorrer, e os vasos que abastecem a substância branca apresentam alterações como
------------------------------------	---

<b>QUADRO CLÍNICO</b>	lipo-hialinose e estreitamento. A demência vascular é uma condição com sintomas variados, que dependem das áreas do cérebro afetadas. Os sintomas comuns incluem problemas de concentração, dificuldades na fala, depressão, sinais de acidente vascular cerebral (AVC), problemas de memória (não iniciais), crises epiléticas, confusão intermitente, alucinações, delírios, dificuldades na marcha, agressividade física e verbal, inquietação e incontinência urinária.
<b>DIAGNÓSTICO</b>	O diagnóstico da demência vascular é desafiador e baseia-se em alterações cognitivas, histórico de doença cerebrovascular e critérios clínicos, como incontinência emocional e déficits cognitivos que afetam a vida diária, além da Escala Isquêmica de Hachinski. A avaliação neuropsicológica adaptada às necessidades individuais é crucial, uma vez que a demência vascular pode afetar regiões subcorticais e resultar em lentidão motora, humor deprimido, déficits de memória, alterações na atenção, funções executivas e comprometimento da linguagem. Além disso, a neuroimagem desempenha um papel importante, com a volumetria hipocampal como uma ferramenta útil para distinguir a DV pura ou associada à doença de Alzheimer. Outros exames, como cintilografia cerebral, tomografia por emissão de pósitrons e espectroscopia, podem ser empregados em situações de diagnóstico incerto, enquanto exames genéticos são relevantes em casos de suspeita clínica de mutações conhecidas, como CADASIL (gene NOTCH3).

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

O manejo clínico apresenta perspectivas promissoras, com ênfase na evolução diagnóstica e terapêutica. Atualmente, as pesquisas concentram-se no desenvolvimento de biomarcadores mais sensíveis e específicos, como o uso de técnicas avançadas de neuroimagem, incluindo ressonância magnética funcional (fMRI) e PET scans que visam detectar alterações patológicas precoces no cérebro. Outrossim, o progresso na análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) é capaz de identificar marcadores biológicos mais confiáveis.

Terapias personalizadas baseadas em perfis genéticos e moleculares dos pacientes estão em ascensão, e almejam abarcar as especificidades de cada indivíduo. As tecnologias assistivas estão se tornando uma parte integral do cuidado

ao paciente, oferecendo possibilidades de melhorar a qualidade de vida enquanto monitora a progressão da doença. O avanço do conhecimento sobre as doenças demenciais é essencial para identificar alvos terapêuticos mais eficazes. Dessa forma, o aumento da conscientização pública e a capacitação de profissionais de saúde, cuidadores e familiares desempenham um papel fundamental na melhoria do atendimento a pacientes com demência, sendo este um desafio crescente para a saúde pública.

Infelizmente, a abordagem clínica das síndromes demenciais é permeada por uma série de desafios intrínsecos que se estendem desde o diagnóstico até o tratamento. O diagnóstico preciso de é complexo devido à sobreposição de sintomas clínicos. A identificação de biomarcadores confiáveis, como proteína tau e  $\beta$ -amiloide, têm sido alvo de constantes pesquisas, mas a sua sensibilidade e especificidade ainda não alcançaram os níveis ideais. Mesmo que a avaliação neuropsicológica seja imprescindível à rotina clínica, sua padronização e disponibilidade são variáveis, tornando o diagnóstico precoce um desafio.

Uma vez diagnosticados, os pacientes enfrentam limitações terapêuticas, tendo em vista que os tratamentos existentes oferecem apenas alívio temporário dos sintomas cognitivos e comportamentais, sem abordar a causa subjacente. Do mesmo modo, essas terapias comumente provocam efeitos adversos, aumentando a complexidade do manejo clínico. A falta de uma cura efetiva e a progressão inexorável da doença contribuem para o ônus substancial que recai sobre os pacientes e seus cuidadores.

Portanto, superar esses desafios na clínica médica requer esforços contínuos na pesquisa de biomarcadores mais precisos, terapias modificadoras da doença, bem como abordagens terapêuticas personalizadas com base na compreensão aprofundada da fisiopatologia dessas condições complexas. Ademais, a conscientização, a educação e o suporte adequado a cuidadores e pacientes desempenham papéis essenciais na melhoria do atendimento a essa população crescente e vulnerável.

## REFERÊNCIAS

ADI – Alzheimer’s Disease International; McGill University. **World Alzheimer Report 2021**. 2021. Disponível em: <<https://www.alzint.org/resource/world-alzheimer-report-2021/>>. Acesso em: 11 ago. 2022.

- AGÜERO-TORRES, H. *et al.* Dementia is the major cause of functional dependence in the elderly: 3-year follow-up data from a population-based study. **American Journal of Public Health**, v. 88, n. 10, p. 1452-1456, 1998.
- ANDRÉ, C. Demência Vascular: Dificuldades e Tratamento. **Arquivos de Psiquiatria**, v. 56, n. 3, p. 498-510, 1998.
- ARNAOUTOGLU, N. A.; O'BRIEN, J. T.; UNDERWOOD, B. R. Dementia with Lewy bodies — from scientific knowledge to clinical insights. **Nature Reviews Neurology**, v.15, p. 103-112, 2019.
- ATRI, A. The Alzheimer's Disease Clinical Spectrum: Diagnosis and Management. **The Medical Clinics of North America**, v. 103, n. 2, p. 263-293, 2019.
- BANG, J.; SPINA, S.; MILLER, B. L. Non-Alzheimer's dementia 1: Frontotemporal dementia. **The Lancet**, v. 386, n. 10004, p. 1672–1682, 2015.
- BARBOSA, B. J. A. P. *et al.* Diagnóstico do comprometimento cognitivo vascular: recomendações do Departamento Científico de Neurologia Cognitiva e do Envelhecimento da Academia Brasileira de Neurologia. **Dementia & Neuropsychologia**, v. 16, n. 3, p. 53-72, 2022.
- BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. **Neurociências: Desvendando o Sistema Nervoso**. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- BENUSSI, A. *et al.* Classification accuracy of blood-based and neurophysiological markers in the differential diagnosis of Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration. **Alzheimer's Research & Therapy**, v. 14, n. 1, p. 155, 2022.
- BIR, S.I.C. *et al.* Emerging Concepts in Vascular Dementia: A Review. **Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases**, 2021, v.30, n. 8, p. 105864, 2021.
- BOEVE, B. F. *et al.* Advances and controversies in frontotemporal dementia: diagnosis, biomarkers, and therapeutic considerations. **The Lancet Neurology**, v. 21, n. 3, p. 258-272, 2022.
- BOTT, N. T. *et al.* Frontotemporal dementia: diagnosis, deficits, and management. **Neurodegenerative Disease Management**, v. 4, n. 6, p. 447-463, 2014.
- BONDI, M. W.; EDMONDS, E. C.; SALMON, D. P. Alzheimer's Disease: Past, Present, and Future. **Journal of the International Neuropsychological Society**, v. 23, n. 9-10, p 818-831, 2018.
- BREIJYEH, Z.; KARAMAN, R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 5789, 2020.
- BURLÁ, C. *et al.* Panorama prospectivo das demências no Brasil: um enfoque demográfico. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 18, n. 10, p. 2949-2956, 2013.

BYNUM, J. P. *et al.* The relationship between a dementia diagnosis, chronic illness, medicare expenditures, and hospital use. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 52, n. 2, p. 187-194, 2004.

CÂMARA, A. B. Receptores neurais e a doença de Alzheimer: uma revisão sistemática da literatura sobre as famílias de receptores mais associadas à doença, suas funções e áreas de expressão. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**. v. 68, n. 3, p. 161-176, 2019.

CAPOUCH, S. D.; FARLOW, M. R.; BROSCHE, J. R. A Review of Dementia with Lewy Bodies' Impact, Diagnostic Criteria and Treatment. **Neurology and Therapy**, v.7, n. 2, p. 249-263, 2018.

CHIN, K. S.; TEODORCZUK, A.; WATSON, R. Dementia with Lewy bodies: Challenges in the diagnosis and management. **Australian & New Zealand Journal of Psychiatry**, v. 53, n. 4, p. 291-303, 2019.

CLODOMIRO, A. *et al.* Somatic comorbidities and Alzheimer's disease treatment. **Neurological Science**, v. 34, n. 9, p. 1581-1589, 2013.

COUGHLAN, G. *et al.* Diagnostic relevance of spatial orientation for vascular dementia: a case study. **Dementia & Neuropsychologia**, v. 12, n. 1, p. 85-91, 2018.

CURI, R.; PROCÓPIO, J. **Fisiologia Básica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

DALMAGRO, A. P.; CAZARIN, C. A.; ZENAIDE, F. S. Atualização no estudo das bases bioquímicas e moleculares da doença de Alzheimer. **Brazilian Applied Science**, Curitiba, v. 4, n. 1, p.118-130, 2020.

DI TOMMASO, A. B. G. *et al.* **Geriatría: Guia Prático**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

DUCHARME, S. *et al.* Recommendations to distinguish behavioural variant frontotemporal dementia from psychiatric disorders. **Brain**, v. 143, n. 6, p. 1632-1650, 2020.

EL-SHEIK, W. M. *et al.* Predictors of dementia after first ischemic stroke. **Dementia & Neuropsychologia**, v. 15, n. 2, p. 216-222, 2021.

ENGELHARDT, E. *et al.* Demência vascular: Critérios diagnósticos e exames complementares. **Dementia & Neuropsychologia**, v. 5, n. 1, p. 49-77, 2011.

FERREIRA-VIEIRA, T. H.; GUIMARÃES, I. M.; SILVA, F. R.; RIBEIRO, F. M. Alzheimer's disease: Targeting the Cholinergic System. **Current Neuropharmacology**, v. 14, n. 1, p.101-15, 2016.

FRATIGLIONI, L.; DE RONCHI, D.; AGÜERO-TORRES, H. Worldwide prevalence and incidence of dementia. **Drugs & Aging**, v. 15, n. 5, p. 365-375, 1999.

- FREITAS, E. V. *et al.* **Manual Prático de Geriatria**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.
- FROTA, N. A. F. *et al.* Critérios para o diagnóstico de doença de Alzheimer. **Dementia & Neuropsychologia**, v. 5, n. 1, p. 5-10, 2011.
- GALIMBERTI, D. *et al.* Psychiatric Symptoms in Frontotemporal Dementia: Epidemiology, Phenotypes, and Differential Diagnosis. **Biological Psychiatry**, v. 78, n. 10, p. 684-692, 2015.
- GALVIN, J. E. Lewy Body Dementia. **Practical Neurology**, p. 67-71, 2019.
- GODEFROY, O. *et al.* Neuropsychological assessment and cerebral vascular disease: the new standards. **Revue Neurologique**, v. 169, n. 10, p. 779-785, 2013.
- GOMES, S. C.; DALLA-VECCHIA, D. Demência com corpos de Lewy: uma abordagem integrada da literatura. *Revista Uniandrade*, v. 20, n. 3, p. 136-148, 2019.
- GRAFF-RADFORD, J. *et al.* New Insights into Atypical Alzheimer's Disease in the Era of Biomarkers. **The Lancet Neurology**, v. 20, n. 3, p. 222-234, 2021.
- IADECOLA, C. The Pathobiology of Vascular Dementia. **Neuron (Cambridge, Mass.)**, v. 80, n. 4, p. 844-866, 2013.
- JELLINGER, K. A. Pathology and pathogenesis of vascular cognitive impairment: a critical update. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 5, n. 17, 2013.
- JELLINGER, K. A. Dementia with Lewy Bodies and Parkinson's Disease-Dementia: Current Perspectives. **International Journal of Neurology and Neurotherapy**, v. 5, n. 2, 2018.
- JELLINGER, K. A. Dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease-dementia: current concepts and controversies. **Journal of Neural Transmission**, v.125, n. 4, p.615-650, 2018
- JELLINGER, K. A.; KORCZYN, A. D. Are Dementia with Lewy Bodies and Parkinson's Disease dementia the same disease? **BMC Medicine**, v. 16, n. 1, 2018.
- JORM, A. F.; KORTEN, A. E.; HENDERSON, A. S. The prevalence of dementia: a quantitative integration of the literature. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 76, n. 5, p. 465-479, 1987.
- JOSVIACK, N. D. *et al.* Revisão dos principais genes e proteínas associadas à demência frontotemporal tau-positiva. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 18, n. 1, p. 201-211, 2015.
- KALARIA, R. N. Neuropathological diagnosis of vascular cognitive impairment and vascular dementia with implications for Alzheimer's disease. **Acta Neuropathologica**, v. 131, n.5, p. 659-685, 2016.

KALARIA, R. N.; AKINYEMI, R.; IHARA, M. Stroke injury, cognitive impairment and vascular dementia. **Biochimica et Biophysica acta**, v. 1862, n. 5, p. 915-925, 2016.

KALARIA, R. N. The pathology and pathophysiology of vascular dementia. **Neuropharmacology**, v. 134, n.5, p. 226-239, 2018.

KANDEL, E. R. *et al.* **Princípios de Neurociências**. 5ª ed. Porto Alegre: AMGH, 2014

KHAN, S.; BARVE, K. H; KUMAR, M. S. Recent Advancements in Pathogenesis, Diagnostics and Treatment of Alzheimer's Disease. **Current Neuropharmacology**, v. 18, n. 11, p. 1106-1125, 2020.

KUMAR, V. *et al.* **Robbins & Cotran: Patologia. Patologia Básica**. 9ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

LAMARRE, A. K. *et al.* Interrater reliability of the new criteria for behavioral variant frontotemporal dementia. **American Academy of Neurology**, v. 80, n. 21, p. 1973–1977, 2013.

LEI, P.; AYTON, S.; BUSH, A. I. The essential elements of Alzheimer's disease. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 296, p. 100105, 2021.

LENT, R. **Cem Bilhões de Neurônios? Conceitos Fundamentais de Neurociência**. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 2010.

MANTZAVINOS, V.; ALEXIOU, A. Biomarkers for Alzheimer's Disease Diagnosis. **Current Alzheimer Research**, v. 14, n. 11, p. 1149-1154, 2017.

**Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais: DSM-5** [American Psychiatric Association]. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

MARQUES, A.; MARTINS, B.; LOEWENTHAL, C. PET com 2-[18F]-FDG no Diagnóstico Diferencial entre Doença de Alzheimer e Demência Frontotemporal. **Acta Radiológica Portuguesa**, v. 34, n. 3, p. 30-31, 2022.

MCKEITH, I. G. *et al.* Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: Fourth consensus report of the DLB Consortium. **American Academy of Neurology**, v. 89, n. 1, p.88-100, 2017.

MEETER, L. H. *et al.* Imaging and fluid biomarkers in frontotemporal dementia. **Nature Reviews Neurology**, v. 13, n. 7, p. 406–419, 2017.

NASERI, N. N. *et al.* The complexity of tau in Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**, v. 705, p. 183-194, 2019.

MISULIS, K. E.; HEAD, T. C. **Neurologia Essencial**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

NEGRÃO, E. F. M. P. **Diagnóstico precoce da demência por corpos de Lewy**.

Orientador: Professor Doutor Manuel Teixeira Marques Veríssimo. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. Coimbra, Portugal, 2014.

Disponível em:

<<https://estudogeral.uc.pt/bitstream/10316/31879/1/TESE%20FINAL%20EDUARDO%20NEGRAO.pdf>>. Acesso em: 10 ago. 2023

NIETZCHE, B. O.; DE MORAES, H. P.; TAVARES-JUNIOR, A. R. Doença de Alzheimer: novas diretrizes para o diagnóstico. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 25, n. 2, p. 237-243, 2015.

NITRINI, R. *et al.* Mortality from dementia in a community-dwelling Brazilian population. **International Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 20, n. 3, p. 247-53, 2005.

O'BRIEN, J. T.; THOMAS, A. Non-Alzheimer's dementia 3: Vascular Dementia. **The Lancet**, v. 386, p. 1698-1706, 2015.

OLIVEIRA, T. R. P. R. *et al.* Promoção da saúde e intersectorialidade na rede de atenção ao idoso. **Geriatrics, Gerontology and Aging**, v. 11, n. 4, p. 182-188, 2017.

OLNEY, N. T.; SPINA, S.; MILLER, B. L. Frontotemporal Dementia. **Neurologic Clinics**, v. 35, n. 2, p. 339-374, 2017.

OSSENKOPPELE, R. *et al.* The behavioural/dysexecutive variant of Alzheimer's disease: clinical, neuroimaging and pathological features. **Brain**, v. 138, n. 9, p. 2732-2749, 2015.

OUTEIRO, T. F. *et al.* Dementia with Lewy bodies: an update and outlook. **Molecular Neurodegeneration**, v. 14, n. 5, 2019.

PARADELLA, R.; BARROSO, M. Número de idosos cresce 18% em 5 anos e ultrapassa 30 milhões em 2017. **Agência de notícias IBGE**, 2018. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/20980-numero-de-idosos-cresce-18-em-5-anos-e-ultrapassa-30-milhoes-em-2017>>. Acesso em: 10 ago. 2022

PERRY, D. C. *et al.* Clinicopathological correlations in behavioral variant frontotemporal dementia. **Brain**, v. 140, n. 12, p. 3329-3345, 2017.

PESSOA, R. M. P. *et al.* The frequency of psychotic symptoms in types of dementia: a systematic review. **Dementia & Neuropsychologia**, v. 17, 2023.

PIGUET, O; HODGES, J. R. Behavioural-variant Frontotemporal Dementia: an update. **Dementia & Neuropsychologia**, v. 7, n. 1, p. 10-18, 2013.

PRASAD, S. *et al.* Recent advances in Lewy body dementia: A comprehensive review. **Disease-a-month**, v. 69, n. 5, 2023.

PURVES, D. *et al.* **Neurociências**. 4ª ed. São Paulo: Artmed, 2010.

RASCOVSKY, K. *et al.* (2011). Sensitivity of revised diagnostic criteria for the behavioural variant of frontotemporal dementia. **Brain**, v. 134, n. 9, p. 2456-2477, 2011.

RODRIGUES, F. A. A.; OH, H. Proteína tau e as doenças neurodegenerativas. **Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar**, v. 6, n. 1, p. 3355-3364, 2022.

ROMERO, C. B. *et al.* Demencia por Cuerpos de Lewy: un síndrome clínico difícil de identificar. **Revista Iberoamericana de Psicología**, n. 114, p. 11-17, 2014.

RONGVE, A. *et al.* Cognitive decline in dementia with Lewy bodies: a 5-year prospective cohort study. **BMJ Open**, v. 6, n. 2, 2016.

RUGGIERO, R. N. *et al.* Neurotransmissão glutamatérgica e plasticidade sináptica: aspectos moleculares, clínicos e filogenéticos. **Medicina (Ribeirão Preto)**, [S. l.], v. 44, n. 2, p. 143-156, 2011.

SAHA, A.; BANERJEE, D. Neuroimaging in Dementia with Lewy Bodies. **Cureus**, v. 13, n. 6, 2021.

SANTO, M. A. O. *et al.* Neuropsychiatric symptoms in vascular dementia: Epidemiologic and clinical aspects. **Dementia & Neuropsychologia**, v.12, n. 1, p. 40-44, 2018.

SANTOS, J. I. *et al.* Assessment of hemodynamic and vascular parameters in Alzheimer's disease, vascular dementia and mild cognitive abnormalities: a pilot study. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 20, n. 5, p. 670-678, 2017.

SCHELTENS, P. *et al.* Alzheimer's disease. **The Lancet**, v. 397, n 10284, p. 1577-1590, 2021.

SCHILLING, L. P. *et al.* Diagnóstico da doença de Alzheimer: recomendações do Departamento Científico de Neurologia Cognitiva e do Envelhecimento da Academia Brasileira de Neurologia. **Dementia & Neuropsychologia**, v. 16, n. 3, p. 25-39, 2022.

SCHUMACHER, J. *et al.* Dementia with Lewy bodies: association of Alzheimer pathology with functional connectivity networks. **Brain**, v.144, n. 10, p. 3212-3225, 2021.

SERRANO-POZO, A.; DAS, S.; HYMAN, B. T. APOE and Alzheimer's Disease: Advances in Genetics, Pathophysiology, and Therapeutic Approaches. **The Lancet Neurology**, v. 20, n. 1, p. 68-80, 2021.

SERY, O. *et al.* Molecular mechanisms of neuropathological changes in Alzheimer's disease: a review. **Folia Neuropathologica**, v. 51, n. 1, p. 1-9, 2013.

SHANKAR, G. *et al.* Natural Oligomers of the Alzheimer Amyloid- $\beta$  Protein Induce

Reversible Synapse Loss by Modulating an NMDA-Type Glutamate Receptor-Dependent Signaling Pathway. **Journal of Neuroscience**. v. 27, n. 11, p. 2866-2875, 2007.

SHOWDEN, J. S. *et al.* Distinct clinical and pathological characteristics of frontotemporal dementia associated with C9ORF72 mutations. **Brain**. v. 135, n. 3, p. 693-708, 2012.

SILVEIRA, F. M. Alterações neuropsicológicas na Demência por Corpos de Lewy. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, [S. l.], v. 7, n. 7, p. 126-140, 2021.

SMITH, E. E. Clinical presentations and epidemiology of vascular dementia. **Clinical Science**, v. 131, n. 11, p. 1059-1068, 2017.

SONAL A.; SCHNEIDER, J. A. Vascular pathology and pathogenesis of cognitive impairment and dementia in older adults. **Cerebral Circulation – Cognitive and Behavior**, v. 3, p. 100148, 2022.

SORBI, S.; FERRARI, C. The complexity of Alzheimer's disease: an evolving puzzle. **Physiological Reviews**, v.101, n. 3, p. 1047-1081, 2021.

SOUZA, L. C. *et al.* Diagnóstico da demência Frontotemporal: recomendações do Departamento Científico de Neurologia Cognitiva e do Envelhecimento da Academia Brasileira de Neurologia. **Dementia & Neuropsychologia**, v. 16, n. 3, p. 40-52, 2022.

SOUZA, L. C. *et al.* Cerebrospinal fluid biomarkers in the differential diagnosis of Alzheimer's disease from other cortical dementias. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 82, n. 3, p. 240-246, 2011.

SUDO, F. K. *et al.* Neuroimaging criteria and cognitive performance in vascular mild cognitive impairment: A systematic review. **Dementia & Neuropsychologia**, v. 9, n. 4, p. 394-404, 2015.

SWIFT, I. J. *et al.* Fluid biomarkers in frontotemporal dementia: past, present and future. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 92, n. 2, p. 204-215, 2021.

TAKADA, L. T. The Genetics of Monogenic Frontotemporal Dementia. **Dementia & Neuropsychologia**, v. 9, n. 3, p. 219-229, 2015.

TAKADA, L. T. Genetic investigation of dementias in clinical practice. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 80, n. 5, p. 36-41, 2022.

TAVARES, A.; AZEREDO, C. Demência com corpos de Lewy: uma revisão para o psiquiatra. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 30, n. 1, p. 29-34, 2003.

TEIXEIRA-JR, A. L.; SALGADO, J. V. Demência fronto-temporal: aspectos clínicos e terapêuticos. **Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul**, v. 28, n. 1, p. 69-76, 2006.

TEIXEIRA-JR, A. L.; CARDOSO, F. Demência com corpos de Lewy: abordagem clínica e terapêutica. **Revista Neurociências**, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 28–33, 2005.

TIEL, C.; SUDO, F. K.; CALMON, A. B. Neuropsychiatric symptoms and executive function impairments in Alzheimer's disease and vascular dementia: The role of subcortical circuits. **Dementia & Neuropsychologia**, v.13, n. 3, p. 293-298, 2019.

TIWARI, S. *et al.* Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. **International Journal of Nanomedicine**, v. 14, p. 5541-5554, 2019.

TORRES, K. C. L. *et al.* Biomarkers in Alzheimer disease. **Geriatrics, Gerontology and Aging**, v. 6, n. 3, p. 273-282, 2012.

UCEDO, D. DE M.; DOS SANTOS, K. P.; SANTANA, A. P. DE O. A linguagem na Demência Frontotemporal: uma análise à luz da Neurolinguística Enunciativo-Discursiva. **CoDAS**, v. 29, n. 4, 2017.

VIEGAS, F. P. D. *et al.* Doença de Alzheimer: Caracterização, Evolução e Implicações do Processo Neuroinflamatório. **Revista Virtual de Química**. v. 3, n. 4, p. 286-306, 2011.

WALKER, Z. *et al.* Comparison of cognitive decline between dementia with Lewy bodies and Alzheimer's disease: a cohort study. **BMJ open**, v.2, n. 1, 2012.

WALKER, Z. *et al.* Non-Alzheimer's dementia 2: Lewy Body dementia. **The Lancet**, v.386, n. 10004, p. 1683-1697, 2015.

WELLER, J.; BUDSON, A. Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment. **F1000 Research**, v. 7, p. 1161, 2018.

WHITWELL, J. L. *et al.* Neuroimaging signatures of frontotemporal dementia genetics: C9ORF72, tau, progranulin and sporadics. **Brain**, v. 135, n. 3, p. 794-806, 2012.

WHO – World Health Organization. **Global Dementia Observatory (GDO)**. Disponível em: <<https://apps.who.int/gho/data/node.dementia>>. Acesso em: 11 ago. 2022.

WHO – World Health Organization. **Global Dementia Observatory (GDO) – Knowledge Exchange Platform**. Disponível em: <<https://globaldementia.org/en>>. Acesso em: 11 ago. 2022.

WONG, E. C.; CHANG, H. C. Vascular Cognitive Impairment and Dementia. **Continuum (Minneapolis, Minn.)**, v. 28, n. 3, p. 750-780, 2022.

YAMADA, M. *et al.* Diagnostic Criteria for Dementia with Lewy Bodies: Updates and Future Directions. **Journal of Movement Disorders**, v.13, n. 1, p. 1-10, 2020.

**PAPILOMA VÍRUS HUMANO (HPV): OS RISCOS DA DOENÇA PARA A SAÚDE ÍNTIMA DA MULHER E SUA RELAÇÃO COM O CÂNCER DO COLO DO**

## ÚTERO

### HUMAN PAPILLOMA VIRUS (HPV): THE RISKS OF THE DISEASE FOR WOMEN'S INTIMATE HEALTH AND ITS RELATIONSHIP WITH CERVICAL CANCER

Heloísa Belieiro Tondinelli  
Alberto Yoichi Sakaguchi<sup>2</sup>

#### RESUMO

A infecção pelo Papiloma Vírus Humano (HPV) contempla um assunto pertinente à citologia oncótica, tendo em vista a correlação deste com o aumento do desenvolvimento do câncer de colo uterino, assim como a incidência de lesões epiteliais verrucosas. Face ainda, ao fato de ser um vírus abordado nas doenças sexualmente transmissíveis e à sua incidência ocupando a terceira posição do câncer que mais causa mortes em mulheres no Brasil. Diante do cenário epidemiológico, da alta prevalência e das características moleculares do HPV e do risco de desenvolvimento do câncer, o objetivo desse artigo foi trazer informações pertinentes à essa IST, como formas de prevenção ao contágio e realização precoce de exames preventivos para a população feminina. Por meio disso, esse artigo aborda uma revisão bibliográfica de caráter descritivo e reflexivo, fundamentado em base de dados online, como o National Library of Medicine National Institutes of Health (PUBMED), Scientific Electronic Library Online (SciELO), Google Acadêmico e livros abordando o tema e utilizando descritores como: câncer do colo do útero, HPV, vacinas, fisiopatologia do vírus, transmissão e fatores de risco. Com base nos dados epidemiológicos divulgados por órgãos governamentais e a relevância da doença que acomete de forma crescente a população feminina, tornou-se evidente o rastreamento para o diagnóstico precoce e evasão da infecção pelo HPV, bem como a colposcopia associada com classificação Bethesda, imuno-histoquímica e captura híbrida no contexto molecular. Ademais, a questão da vacinação precoce foi levantada com o intuito de amenizar o risco de infecção pelo vírus e a incidência do câncer do colo de útero. Portanto, esse trabalho apresentou a relevância da infecção do HPV com a finalidade de conscientizar a saúde feminina e incentivar medidas preventivas para o combate à infecção desse vírus.

**Palavras-chaves:** câncer do colo do útero. diagnóstico precoce. HPV. prevenção. vacina.

#### ABSTRACT

The infection by the Human Papillomavirus (HPV) encompasses a subject relevant to oncotic cytology, considering its correlation with the increased development of cervical cancer, as well as the incidence of verrucous epithelial lesions. Additionally, it is a virus addressed in sexually transmitted diseases, ranking third in the cancers that cause the most deaths in women in Brazil. Given the epidemiological scenario, high prevalence, and molecular characteristics of HPV, along with the risk of cancer development, the objective of this article was to provide information relevant to this sexually transmitted infection (STI), such as methods for preventing contagion and early screening for the

female population. This article presents a descriptive and reflective bibliographic review based on online databases, such as the National Library of Medicine National Institutes of Health (PubMed), Scientific Electronic Library Online (SciELO), Google Scholar, and books addressing the topic. The descriptors used include cervical cancer, HPV, vaccines, virus pathophysiology, transmission, and risk factors. Based on epidemiological data released by governmental agencies and the increasing impact of the disease on the female population, the need for screening for early diagnosis and prevention of HPV infection became evident. This includes colposcopy associated with the Bethesda classification, immunohistochemistry, and hybrid capture in the molecular context. Furthermore, the issue of early vaccination was raised with the aim of reducing the risk of virus infection and the incidence of cervical cancer. Therefore, this work highlighted the relevance of HPV infection to raise awareness of women's health and encourage preventive measures to combat this virus.

**Keywords:** cervical cancer. HPV. premature diagnosis. prevention. vaccine.

## 1 INTRODUÇÃO

O Papiloma Vírus Humano (HPV) é um vírus que acomete o organismo causando uma doença considerada infectocontagiosa, sendo o contato sexual a sua principal forma de transmissão. É responsável por possíveis lesões intraepiteliais e, dependendo de seu subtipo, pode ser considerada de benigna à precursora do câncer do colo do útero (KUMAR et al., 2023).

Historicamente, o vírus é conhecido desde a antiguidade, embora, naquela época, não houvesse um diagnóstico preciso, existiam informações pertinentes e o conhecimento de sintomas causados pelo vírus, reconhecido primeiramente por Hipócrates (460 – 377 a.C.). Anos depois, na Era Romana (Celsus 25 d.C.), a doença foi relatada e descrita como verrugas da pele. Embora houvesse relatos da doença na idade média, naquela época ainda não existiam distinções entre as infecções sexualmente transmissíveis (IST's) (KARAMANOU et al., 2010).

Após um experimento feito por Joseph F. Payne, em Londres, no final do século XIX a doença foi relatada como de origem infecciosa, sendo descrito pelo desenvolvimento das verrugas após autoinoculação em seu próprio polegar, a partir da raspagem de uma lesão verrucosa proveniente de uma criança, ocorrendo a partir de 1930, um grande avanço nos estudos e pesquisas pelo uso da microscopia eletrônica e do cultivo de células. Sendo realizado em 1940, por alguns pesquisadores da Escola de Medicina da Universidade de Yale, New Haven, Connecticut, a observação de partículas semelhantes ao vírus retiradas de papilomas da pele e, após um ano, feito a identificação do HPV como agente etiológico das verrugas

(KARAMANOU et al., 2010).

No cenário atual, de acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA), o câncer do colo do útero é o terceiro tipo de câncer mais incidente em mulheres no Brasil (excluindo os tumores de pele não melanoma). Para cada ano do triênio 2023 a 2025, foram estimados 17.010 novos casos, o que representa um risco de 15,38 casos a cada 100 mil mulheres. Em relação à análise regional, esse tipo de câncer é o segundo mais incidente em regiões como Norte e Nordeste e ocupa a terceira posição na região Centro-Oeste do país. Em contrapartida, a região Sul ocupa a quarta posição e, no Sudoeste, a quinta posição (INCA, 2022a).

Em vista de toda a informação proveniente das complicações causadas pelo vírus do HPV, conseqüentemente, um assunto de grande importância para a saúde da mulher, o objetivo desse trabalho foi conscientizar mulheres sobre os riscos da infecção pelo HPV, prevenção e a necessidade de realizar o exame preventivo precocemente, para a evasão do desenvolvimento do câncer do colo do útero.

## **2 METODOLOGIA**

O presente trabalho foi realizado por meio de uma pesquisa bibliográfica descritiva, levantando informações provenientes de artigos publicados dentro dos últimos 20 anos em base de dados online como o National Library of Medicine National Institutes of Health (PUBMED), Scientific Electronic Library Online (SCIELO), Google Acadêmico e utilizando alguns termos específicos para a busca, como os aspectos gerais do HPV, histórico, composição viral, fisiopatologia, eficácia das vacinas, entre outros termos correlatos. Os conteúdos didáticos escolhidos datam de 2005 a 2020. O conteúdo desse trabalho seguiu alguns critérios de inclusão, como: artigos científicos publicados dos últimos anos nos idiomas português e inglês, sites governamentais e livros pertinentes ao assunto. Os critérios de exclusão utilizados foram sites não governamentais, resumos e artigos científicos com mais de vinte anos de publicação, que incluíam o sexo masculino como tema principal.

### 3 DESENVOLVIMENTO

A infecção pelo HPV é considerada uma doença sexualmente transmissível, que causa lesões principalmente na mucosa genital, pode aparecer também em outras regiões do corpo, como na garganta e boca. Atualmente são conhecidos mais de duzentos subtipos do vírus, entre eles alguns que são de alto risco para o desenvolvimento de câncer principalmente em mulheres, no colo uterino (NAKAGAWA et al., 2010).

Diante do contexto, existe a viabilidade de diminuir a infecção pelo vírus e conseqüentemente a progressão para o câncer do colo do útero, por meio da combinação da vacinação contra os tipos mais comuns de HPV oncogênicos e da vigilância e tratamento de lesões iniciais. A estratégia global delineada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para acelerar a erradicação dessa doença como um problema de saúde pública envolve as seguintes metas a serem atingidas até 2030: garantir que 90% das jovens estejam completamente imunizadas contra o HPV até os 14 anos de idade, assegurar que 70% das mulheres realizem exames de rastreamento altamente eficazes aos 35 e 45 anos e certificar-se de que 90% das mulheres diagnosticadas com lesões precursoras e câncer recebam tratamento adequado (INCA, 2022a).

Alguns estudos demonstraram que o Brasil aderiu de forma positiva a imunização, sendo a população informada por meio de campanhas vacinais promovidas pelo Governo aliadas às escolas, pelo Sistema Único de Saúde (SUS) ou até mesmo por propagandas televisivas, mostrando que existe certa informação acerca do assunto abordado e da eficácia do imunizante. Sobre os questionários realizados na pesquisa, a maioria dos participantes souberam responder sobre as conseqüências causadas pelo vírus, principalmente a sua relação com o câncer do colo do útero (TOBIAS; IWAMOTO; TEIXEIRA, 2017).

#### 3.1 Anatomia e Histologia do Sistema Reprodutor Feminino

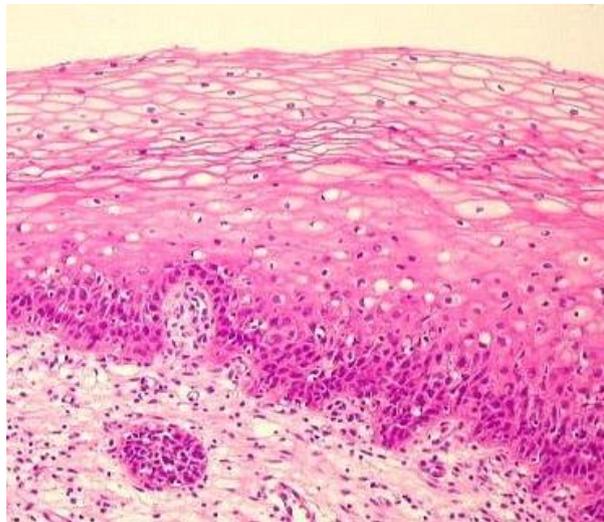
Para melhor compreensão é importante ressaltar a anatomia reprodutora feminina, assim como os achados histopatológicos para detecção das lesões causadas pelo vírus e suas características (NAKAGAWA et al., 2010).

O útero é um órgão localizado na cavidade pélvica, pósterio-superior à bexiga

urinária e ântero-inferior ao reto. Possui um tecido distensível que é capaz de aumentar significativamente seu tamanho durante a gestação, mede em torno de 3 a 5 centímetros (cm) de comprimento por 2,5 cm de diâmetro, considerando um útero não gravídico (SOUSA, 2011).

Sua organização anatômica, apresenta uma porção dilatada e maior na parte superior, onde estão anexadas as tubas uterinas e, póstero-lateralmente, os ovários. Inferiormente sofre um estreitamento e está organizado em duas porções primordiais: a endocérvice e ectocérvice, em continuidade com o canal vaginal e grandes lábios, que por sua vez, compõe a genitália externa designada vulva. Aqui, cita-se o monte pubiano, área mais externa de todo o órgão, assim como o canal da uretra (porção mais interna), responsável pela passagem da urina. Há, ainda, os pequenos lábios, que se encontram envolvendo os óstios vaginal e uretral, sem presença de pelos pubianos e com uma coloração ligeiramente mais escura que o restante das demais estruturas (JACINTO, 2020). A figura abaixo ilustra a histologia da ectocérvice e endocérvice (Figura 1 e 2).

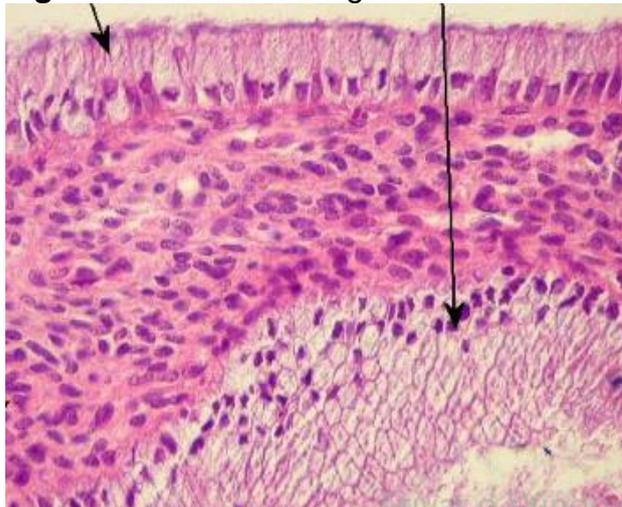
**Figura 1 – Corte histológico da ectocérvice**



**Legenda:** Corte histológico da ectocérvice, sendo apresentadas suas três camadas: basal, intermediária e superficial.

**Fonte:** Anatomia patológica - Unicamp

**Figura 2 – Corte histológico da endocérvice**



**Legenda:** corte histológico da endocérvice, sendo representada pela seta preta a região de células glandulares.

**Fonte:** Anatomia patológica - Unicamp

A porção que engloba o colo uterino é o de mais relevância para esta revisão. É onde encontram-se achados histopatológicos que favorecem o diagnóstico da doença causada pelo HPV. Conforme mencionado anteriormente, divide-se em duas porções: a ectocérvice e a endocérvice. A ectocérvice contempla o lado externo do colo uterino, na qual é evidenciado o epitélio escamoso estratificado não queratinizado como a maioria das células presentes, que revestem essa região. Na fase reprodutiva, pode-se dividir essa região em camadas - profunda, intermediária e superficial (LIMA, 2012).

A camada profunda, em que ocorre a replicação celular, é responsável pela regeneração. Ela é composta por células basais e parabasais, contendo uma ou duas fileiras de células, presentes acima da lâmina basal. Já, as outras duas camadas restantes – intermediária e superficial – são compostas por células que diferem da camada profunda apenas pelo seu estágio de maturação, que depende de hormônios, como os estrógenos. Por outro lado, a deficiência estrogênica (na menopausa, por exemplo) leva à atrofia dessa parte celular (LIMA, 2012).

A endocérvice corresponde ao canal cervical, medindo por volta de 2 a 3 milímetros (mm) de espessura. Essa região é composta principalmente por epitélio colunar simples e esse tipo é raramente ciliado, sendo predominantemente células glandulares secretoras. É composta por uma única camada de células colunares, que variam de tamanho de acordo com o período do ciclo menstrual. Na transição entre a

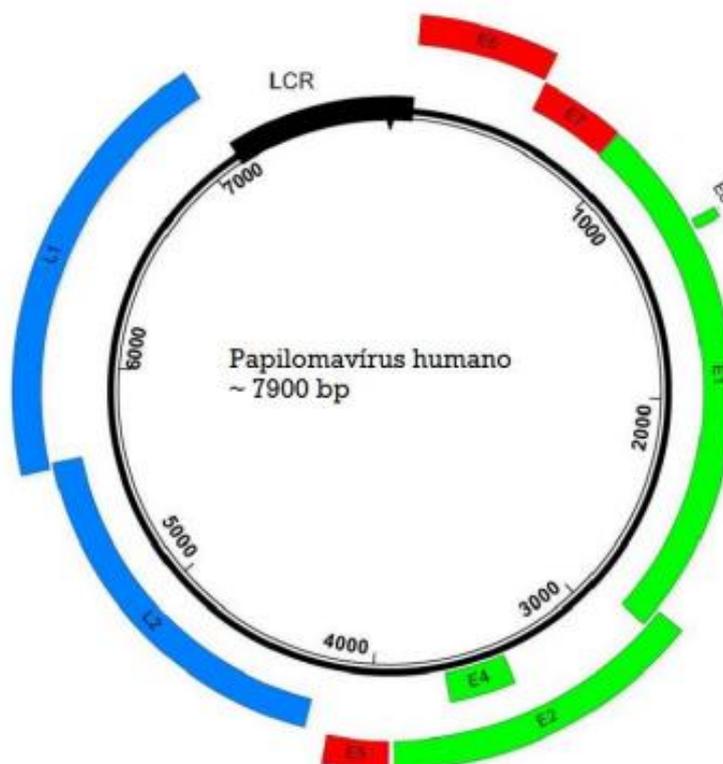
ectocérvice e endocérvice, acontece a mudança de epitélio, denominada de junção escamocolunar (JEC). Vale ressaltar que, com o avanço da idade e consequente pós-menopausa, devido a deficiência estrogênica, as células são menores e necessitam da atividade secretória encontrada na fase reprodutiva (JACINTO, 2020).

### 3.2 Características Morfológicas do HPV

São conhecidos mais de 200 subtipos diferentes de HPV, sendo os subtipos 16 e 18 mais prevalentes nos casos de câncer do colo do útero. De acordo com o INCA, eles representam 70% dos casos desse tipo de câncer. Já, os subtipos 6, 11, 42 e 44 estão ligados ao aparecimento de condilomas e, consequentemente, responsáveis por 90% das lesões verrucosas, apresentando baixo grau de malignidade para o desenvolvimento do câncer (INCA, 2022a).

O HPV é de estrutura pequena, varia de 50 a 55 nanômetros (nm), pertencendo à família *Papoviridae* – gênero *Papillomavirus*. Trata-se de um vírus não envelopado, com simetria icosaédrica. O seu genoma contém, aproximadamente, 8 mil pares de base de DNA dupla fita e circular. Apesar de ser um vírus de estrutura muito reduzida, sua estrutura molecular é bem complexa. O seu DNA viral é encontrado associado às proteínas semelhantes a histonas, envoltas por 72 capsômeros, que são constituídos por duas proteínas estruturais, a L1 e L2. Existem mais duas regiões além dessas que compõem a estrutura viral: genes que codificam as proteínas não estruturais (E1, E2, E4, E5, E6 e E7) e uma região de controle transcricional denominada região de controle longo (LCR – do inglês: *Long Control Region*) (KAJITANI et al., 2012), conforme representado na figura 2. Esse vírus é capaz de infectar seres humanos, assim como um grande número de animais, sendo o homem considerado o hospedeiro mais extensivamente estudado (LETO et al., 2011).

**Figura 3 – Estrutura viral do HPV.**



**Legenda:** Imagem ilustrativa de cada região que compõe o vírus do HPV. Contém as proteínas E1, E2, E4 e E8 expressas em verde, as proteínas E5, E6 e E7 expressas em vermelho indicando maior potencial carcinogênico e as proteínas estruturais L1 e L2 identificadas na cor azul.

**Fonte:** Adaptado de SPURGEON; LAMBERT, 2017.

### 3.3 Transmissão e Fisiopatologia do HPV

Estudos comprovam que 80% das mulheres sexualmente ativas serão infectadas por um ou mais subtipos do HPV em algum momento de suas vidas. O vírus, quando contraído, muitas vezes pode ser expelido pelo próprio organismo, combatido pelo sistema imunológico. Em contrapartida, ele pode permanecer latente no organismo, causando sintomas quando há uma deficiência na imunidade do indivíduo (CIRINO; NICHATA; BORGES, 2010; KUMAR et al., 2023).

A transmissão do vírus do HPV é altamente prevalente, sendo ele muito fácil de ser contraído. A vida sexual ativa é um fator de risco importante para o contágio, principalmente quando é iniciada de forma precoce e o indivíduo tem muitos parceiros sexuais durante a vida. A principal forma de transmissão do vírus do HPV no qual tem maior potencial para o câncer do colo do útero é pelo contato sexual, ou seja, é uma doença caracterizada como IST. O uso de preservativos é indispensável, porém não é 100% eficaz, em vista que o vírus pode ficar alojado na base do pênis do homem,

local que fica exposto, podendo contaminar a mulher (KUMAR et al., 2023).

Existem também outras formas de transmissão, como a não sexual, nas quais as lesões podem acometer qualquer outra região do corpo. Esse contágio deve-se à inoculação do vírus após o uso compartilhado de toalhas ou roupas íntimas. Há o risco também do vírus ser transmitido de um local para o outro do próprio corpo do indivíduo, através da corrente sanguínea, que poderá causar lesões verrucosas (CARDOSO, 2017).

Apesar do fator de risco pela infecção do HPV seja multifatorial, dois são de maior importância: numerosos parceiros e início precoce das relações sexuais. O primeiro deve-se à maior chance de se relacionar com um indivíduo que esteja infectado pelo vírus e, o segundo, relaciona-se com o primeiro fator (KUMAR, et al., 2023).

Segundo estudos de estatística feitos por Ferreira, Lala e Mansour (2017) em mulheres grávidas, a idade que ocorre com maior prevalência da infecção pelo HPV de alto risco é entre 20 a 24 anos, sendo que 26,09% dessas mulheres estudadas apresentavam-se infectadas pelo vírus. Esses dados entraram em conflito com alguns estudos analisados, já que esses contam que a alta prevalência seria entre jovens solteiras, supondo-se que essas provavelmente teriam mais parceiros sexuais. Ainda sobre a análise feita pelos autores, 82,60% das gestantes possuíam hábitos tabagistas, outro fator de risco para a infecção pelo HPV.

O mecanismo que explica o tabagismo ser considerado como um dos fatores de risco é o dano ao material genético das células cervicais e a imunossupressão local causadas por substâncias carcinogênicas contidas no cigarro, como o arsênio, níquel e chumbo, por exemplo (TAQUARY et al., 2018).

O HPV acomete, principalmente, células imaturas e com pouca diferenciação do epitélio escamoso, muitas delas presentes no colo uterino, sendo mais vulnerável para a infecção quando comparado, por exemplo, com outras regiões como a pele e a mucosa da vulva. Essa comparação é vista por conta da diferença entre essas células, já que em outras regiões citadas, concentram-se células escamosas maduras. À medida que essas células basais sofrem diferenciação celular, elas migram em direção à superfície e tornam-se diferenciadas. Após esse evento, o DNA viral é disseminado entre outras células, enquanto que algumas permanecem como reservatório viral. Diante à proliferação dessas células infectadas, elas posteriormente terão o potencial de causar lesões de alto grau, dependendo de seu subtipo,

originando o câncer, que pode romper a membrana basal e acometer outros tecidos. Esse processo acontece de uma forma lenta, podendo levar anos para chegar ao câncer propriamente dito (CARDOSO, 2017).

Esse vírus, incluindo todos os subtipos, codificam as proteínas E1, E2 e E4, constituindo o capsídeo viral. Enquanto as proteínas E1 e E2 influenciam o ciclo de replicação e transcrição, a proteína E4 contribui para a eficiência da amplificação do genoma, e as proteínas E5, E6 e E7 tem um papel fundamental na regulação do crescimento, proliferação e apoptose celular, considerando proteínas oncogênicas (GARBUGLIA, 2014).

Essas proteínas, quando interagem com duas proteínas do hospedeiro, a P53 e a proteína Retinoblastoma, suprimem a morte das células alteradas, tornando-as praticamente imortais. Isso resulta na promoção da multiplicação celular descontrolada, instabilidade no material genético e acúmulo de mutações, desencadeando o crescimento incontrolável das células, caracterizando o câncer. Os antígenos de vacina derivados das proteínas E6 e E7 podem desempenhar um papel significativo no bloqueio do avanço de lesões intraepiteliais e na progressão dos diversos estágios do carcinoma invasivo (KARAMANOU et al., 2010).

### 3.4 Diagnóstico

Com relação ao diagnóstico, praticamente de forma unânime entre os profissionais, livros e artigos, o Papanicolau é o principal exame para o rastreamento da infecção pelo HPV, sendo de extrema importância ser realizado nas mulheres pelo menos uma vez ao ano, quando não há histórico anterior de lesões causadas por esse vírus (OLIVEIRA et al., 2020).

O exame do Papanicolau consiste na raspagem das células presentes no colo uterino e identificação de achados citológicos que levarão aos diagnósticos para algumas doenças, principalmente para a infecção pelo HPV. Com o auxílio de uma espátula de Ayres e escova endocervical (cytobrush), essas células são retiradas do local e transferidas para uma lâmina, que será armazenada e processada posteriormente. Junto a esse material, também será utilizado um espécuro, que servirá para abrir o canal vaginal e permitir a melhor visualização do colo uterino (JACINTO, 2020).

A Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia

(Febrasgo) recomenda algumas normas para o rastreamento do câncer do colo do útero na mulher brasileira, sendo os mais importantes: inserção do DNA-HPV como teste primário e que as mulheres com subtipos HPV 16 e 18 sejam direcionadas, diretamente, para a colposcopia. Para essas que já apresentaram lesões anteriormente, o período de retorno para a coleta e realização de exames deve ser realizada em um período mais curto, sendo ele a cada seis meses ao invés de um ano (OLIVEIRA et al., 2020).

A coleta da amostra define-se como o começo da fase pré-analítica. Nos passos posteriores terão as montagens das lâminas, que consiste na fixação e coloração das células coletadas. A respeito da fixação desse material, é importante citar que esse processo visa preservar o estado morfológico das células e para isso deve ser realizada, imediatamente, após a coleta da amostra, para que não haja a dissecação e conseqüente deformidade celular, assim como alterações no momento de corar essas células. As substâncias mais utilizadas nesse processo são os sprays a base de álcool, que funcionará como um desnaturador das proteínas e ácidos nucleicos, tornando-os insolúveis e estáveis. Após todos esses processos serem realizados, o material será levado para análise (JACINTO, 2020).

A partir da análise feita em laboratório pelo profissional responsável, será redigido um laudo que irá especificar todos os achados citomórficos, em uma classificação única. Ao longo dos anos, vários tipos de laudos foram considerados, porém, foi implementado e atualizado o sistema de Bethesda, que é o mais utilizado ao redor do mundo (JACINTO, 2020).

Além dos métodos de diagnósticos já citados, existem outros que ajudam no rastreio da doença, sendo eles a imuno-histoquímica, que irá identificar células com potenciais cancerígenos através de reações entre proteínas das células infectadas e anticorpos preparados e marcados com proteínas conhecidas. Ao pensar no contexto molecular, a Captura Híbrida é utilizada com o intuito de identificar o subtipo de HPV, classificando conforme seu potencial oncogênico, utilizando sondas específicas contra os subtipos do vírus que são de maior risco (SILVA et al., 2015). Referindo-se ao câncer já estabelecido no organismo e não mais como um método preventivo, poderão ser realizados também exames de imagem, como a ressonância magnética, que irá auxiliar na detecção do câncer do colo do útero, rastreando possíveis alterações anatômicas do órgão acometido (RODRIGUES et al., 2009).

Com o passar dos anos, fez-se necessário a criação de um laudo citológico

único e padronizado. Pensando nisso, foi formulado um sistema de classificação que pudesse ser entendido por todos, para que houvesse melhor organização para os achados citomorfológicos nas amostras. Portanto, os laudos atuais obedecem a classificação de Bethesda, porém, informações complementares podem ser adicionadas ao laudo também (JACINTO, 2020).

Em 2001, com a atualização do sistema de Bethesda, foi promovido pelo INCA e a Sociedade Brasileira de Citopatologia o seminário para discussão da nomenclatura brasileira de laudos e exames citopatológicos, que ocorreu no Rio de Janeiro. Essa ação consistia em uma nova nomenclatura brasileira para esses laudos, pois houve a necessidade de incorporar novas tecnologias e conhecimentos clínicos, morfológicos e moleculares. No ano de 2003, foi publicado o livreto Nomenclatura Brasileira para Laudos Citopatológicos Cervicais e Condutas Clínicas Preconizadas, que consistia em um conjunto de estratégias que visavam padronizar os laudos citopatológicos e manter o controle de qualidade que são emitidos pelos laboratórios prestadores de serviços ao SUS. Já, em 2006, esse livreto foi atualizado e republicado, com apenas uma alteração, passando de “negativo para lesões intraepiteliais ou malignidade” para “alterações celulares benignas”, quando a paciente não tinha nenhuma lesão causada pelo HPV, sendo esse modelo de laudo utilizado até os dias atuais (INCA, 2012b).

Esse método de laudo consiste em alguns tópicos, os quais irão ser descritos todos os achados citomorfológicos da amostra coletada. Primeiramente, será informada a adequação da amostra, citando se ela foi satisfatória ou não para a análise. Posteriormente, será relatada a categorização geral desse material, que contará com possíveis achados dentro do limite de normalidade, alterações celulares benignas até anormalidades em células epiteliais. Conseqüentemente, será especificado o diagnóstico descritivo, podendo ser negativo para lesão intraepitelial ou malignidade, achados não neoplásicos (se houver), até o relato de microorganismos que podem estar presentes na amostra. Seguindo essa ordem, também serão classificadas alterações celulares reativas associadas com inflamação, atrofia com inflamação, radiação e Dispositivo Intrauterino (DIU) (INCA, 2012b).

Quando o exame é positivo para anormalidades em células epiteliais, serão classificadas em duas etapas distintas: achados em células escamosas e/ou em células glandulares. Por sua vez, essas terão suas classificações conforme o grau de malignidade e comprometimento das células, como mostra a tabela abaixo (Tabela 1) (INCA, 2012b):

**Tabela 1** – Tabela das classificações das lesões epiteliais escamosas.

Papanicolau 1943	Richart 1968	Bethesda 1988 - 1991	Bethesda 2001	Nomenclatura Brasileira 2006
<b>Classe I:</b> Ausência de células atípicas ou anormais	Normal	Alterações celulares benignas	Negativo para lesões Intraepiteliais ou malignidade	Alterações celulares benignas
<b>Classe II:</b> Células atípicas presentes, porém sem evidências de malignidade.	<b>Atipias</b>	<b>ASC-US</b> <b>AG-US</b>	<b>ASC-US:</b> <b>ASC-H:</b>	<b>ASC-US</b> <b>ASC-H</b>
<b>Classe III:</b> Citologia sugestiva mas não conclusiva para malignidade.	<b>NIC I</b>	<b>LSIL</b>	<b>LSIL</b>	<b>LSIL</b>
	<b>NIC II</b>	<b>LSIL</b>	<b>LSIL</b>	<b>LSIL</b>
<b>Classe IV:</b> Citologia altamente sugestiva de malignidade.	<b>NIC III</b> Carcinoma "in situ"	<b>HSIL</b>	<b>HSIL</b>	<b>HSIL</b>
<b>Classe V:</b> Citologia altamente sugestiva de malignidade.	Carcinoma Escamoso invasor	Carcinoma Escamoso invasor	Carcinoma Escamoso invasor	Carcinoma Escamoso invasor
	Adenocarcinoma	Adenocarcinoma invasor	Adenocarcinoma "in situ" Adenocarcinoma invasor	Adenocarcinoma "in situ" Adenocarcinoma invasor

**Legenda:** Quadro informativo sobre as formas de classificações das lesões epiteliais escamosas, em ordem cronológica e respectivos autores. NIC – Neoplasia intraepitelial cervical; AG-US – *Atypical Glandular Cells of undetermined significance* - Atipias de significado indeterminado em células glandulares; AGC-NOS - *Atypical Glandular Cells not otherwise specified* – independente do tipo celular (endocervical ou endometrial); AGC-favor neoplasia - *Atypical Glandular Cells* – sugerem neoplasia; AIS – Adenocarcinoma "in situ"; ASC-US – *Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance* - Atípicas de células escamosas de significado indeterminado, possivelmente não neoplásicas; ASC-H – *Atypical Squamous Cells, cannot exclude HSIL* - Atípicas de células escamosas de significado indeterminado, não podendo afastar lesão de alto grau; LSIL – *Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion* - lesão intraepitelial escamosa de baixo grau; HSIL – *High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion* - Lesão intraepitelial escamosa de alto grau.

**Fonte:** INCA (2012).

### 3.5 Tratamento

Quando se trata do tratamento da infecção pelo HPV, o mais importante a ser ressaltado é a vacinação precoce. Porém, existem alguns tratamentos para as lesões e até o tratamento para o câncer do colo do útero, caso ocorra a progressão da doença. Como acontece em muitos outros casos de doenças e infecções, é de extrema importância que aconteça o diagnóstico precoce para estabelecer a melhor eficácia do tratamento (INCA, 2012b).

O tratamento deve ser avaliado de acordo com alguns critérios pré-estabelecidos, como as características das lesões verrucosas. Deve levar em consideração o local, o tamanho, a extensão acometida e se é multifocal. Essas lesões, normalmente, apresentam baixa incidência para a progressão para o câncer do colo do útero, porém ainda são transmissíveis. Conforme o Centros de Controle e

Prevenção de Doenças (CDC), o recomendado é tratar apenas lesões visíveis. No entanto, essa recomendação não é totalmente válida, pois existem lesões que, ao olho nu, parecem ser pequenas, contudo, durante a colposcopia, elas se apresentam maiores. Essa situação pode explicar casos em que há suspeita de recidiva das lesões, mas é apenas uma lesão que aumentou o seu tamanho e não foi devidamente rastreada e tratada (MARMO-LUCON et al., 2006).

Diante dos tipos de tratamento, podemos classificá-los quanto à sua forma de ação. Existem os agentes antimitóticos, que irão inibir a proliferação celular e, conseqüentemente, as células afetadas pelo HPV. Seu uso é amplamente utilizado, porém deve ser administrado com cautela, já que essas substâncias podem causar efeitos colaterais às células saudáveis, como a corrosão. Outro medicamento com efeito semelhante são os agentes ceratolíticos, e sua forma de ação consiste na destruição tissular, ou seja, é importante isolar áreas saudáveis ao redor da lesão para que essas não sejam comprometidas pelo fármaco, portanto, sendo indicado apenas para lesões externas. Já, os agentes imunomoduladores também são utilizados, podendo ser de uso tópico ou sistêmico, que irá estimular as células de defesa do organismo para combater as células infectadas pelo vírus, como as células *Natural Killers* (NK), macrófagos e linfócitos T (MARMO-LUCON et al., 2006).

Além disso, a vacinação é um método eficaz e de ótimo custo-benefício para se combater uma doença de etiologia infecciosa (CASTELLSAGUÉ et al., 2011). Atualmente no Brasil, está disponível a vacina quadrivalente, que protege contra os subtipos que tem maior potencial carcinogênico, sendo o 16 e o 18, protegendo também contra os subtipos 6 e 11, comumente associados às lesões verrucosas. Com o nome de Gardasil 4V, a vacina está disponível no SUS para crianças entre 9 a 14 anos, em duas doses com intervalo de seis meses e para mulheres e homens imunossuprimidos até 45 anos, com três doses e intervalo de dois e seis meses entre elas (FEBRASGO, 2023).

A partir de 2015, nos Estados Unidos, foi recomendada e licenciada uma nova formulação da vacina, que além dos 4 subtipos já citados, imuniza contra mais 5 subtipos: 31, 33, 45, 52 e 58. Chamada de Gardasil 9V, em março de 2023 ela foi aprovada e liberada para comercialização no Brasil pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), porém ela está disponível apenas na rede privada. Na rede pública de saúde, permanece disponível apenas a Gardasil 4V (FEBRASGO, 2023).

A composição da vacina quadrivalente, a Gardasil 4V, é constituída por partes estruturais dos quatro subtipos mais prevalentes e de maior risco – 6,11,16 e 18 –, desenvolvida pela metodologia conhecida como *Virus Like Particle* (VLP), que consiste em partículas semelhante ao vírus, porém, não contém o DNA viral ou qualquer produto biológico vivo, sendo composta somente pelas proteínas estruturais L1 e L2 do capsídeo viral, sendo altamente imunogênicos e, por conta desse fator, não são infectantes. Tal vacina é produzida pela técnica de DNA recombinante, que são geradas em culturas de leveduras do tipo *Saccharomyces cerevisiae*, estimulando a produção de anticorpos contra os subtipos presentes nela (DERCHAIN; SARIAN, 2007).

O mecanismo de ação baseia-se na produção de anticorpos neutralizantes contra as proteínas do capsídeo viral, fazendo com que o organismo gere uma resposta imunológica específica de memória, seguida de capacidade de neutralizar infecções subsequentes. Além disso, alguns estudos apontam que a vacina pode promover a proteção cruzada, ou seja, contra outros subtipos que são, geneticamente, similares ao da vacina, como por exemplo os 45 e 48 (DIAS et al., 2014).

A vacina bivalente mostrou-se eficaz em mulheres que apresentaram NIC II, causada, principalmente, pelos subtipos de maior predisposição oncogênica, 16 e 18. Entretanto, essa eficácia aumentou para aquelas que ainda não tinham sido expostas e infectadas anteriormente pelo vírus. Com relação à eficácia da vacina quadrivalente, foram analisados dois ensaios clínicos de fase III: o *Females United to Unilaterally Reduce Endo/Ectocervical Disease I* (FUTURE I) e FUTURE II. Ambos os ensaios foram randomizados e controlados por placebo, utilizando mulheres não grávidas entre 15 a 26 anos (ZARDO et al., 2014).

No ensaio FUTURE I, foram escolhidas aleatoriamente 5.455 mulheres, utilizando os seguintes critérios: ausência de histórico prévio de verrugas genitais ou citologia cervical anormal e um máximo de quatro parceiros sexuais durante a vida. Elas foram divididas em dois grupos, sendo que um deles recebeu o placebo e o outro a vacina, posteriormente sendo acompanhadas por três anos após a aplicação do imunizante. Nesse estudo, foi comparada a eficácia da vacina para lesões de baixo grau, alto grau e adenocarcinoma. Mesmo com uma alta taxa de eficácia, quando administrada em pacientes depois de apresentarem lesões intraepiteliais de baixo grau causada pelo HPV, a vacina passa a ter apenas 62% da sua total eficácia. Entretanto, nas lesões de alto grau e no adenocarcinoma, o imunizante não se

mostrou significativo (BARBOSA; ARRUDA; PEREIRA, 2015).

Sobre o ensaio FUTURE II, foram utilizados os mesmos critérios para a escolha das participantes no estudo, porém, ao invés de 5.455, aumentaram o número para 12.167. Observou-se que a eficácia permanecia a mesma, de 100% de imunização para aqueles que nunca apresentaram lesões de baixo ou alto grau. Quando foi avaliada a eficácia com intenção de tratar a infecção, a taxa de eficácia abaixou para 57% para NIC II, 42% para NIC III e 28% para adenocarcinoma (BARBOSA; ARRUDA; PEREIRA, 2015).

Em resumo, esses dois estudos mostraram que pacientes imunizadas precocemente e antes de serem expostas pelo vírus e infectadas, se beneficiaram plenamente da imunização, adquirindo a proteção contra os quatro subtipos de HPV na vacina. Já, as pacientes que tiveram anteriormente algum tipo de lesão causada pelo vírus, se beneficiaram parcialmente, imunizando-se apenas contra aqueles subtipos do vírus que não tiveram contato (ZARDO et al., 2014).

Por outro lado, existe uma parcela da população que é a favor da resistência à vacinação contra o HPV, principalmente, por conta da falta de conhecimento em relação aos desfechos da doença causadas pelo vírus e possíveis implicações econômicas e socioculturais, justificando a baixa procura pelo imunizante. Mesmo com a sua eficácia comprovada e aceitação de boa parte da população sobre a implementação da vacina no SUS, alguns pais e responsáveis temem que suas filhas iniciem sua vida sexual precocemente, um estigma fortemente implementado na sociedade e, citando outro fator, a proibição por conta de algumas religiões (LEITE-ALMEIDA et al., 2014).

Compreende-se que, os principais responsáveis pela informação sobre o vírus e suas consequências são os adultos. Muitos jovens ainda não têm total conhecimento sobre o assunto, relacionando ISTs apenas à síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), ignorando os riscos do contágio pelo HPV. É válido citar que homens também são portadores do vírus e, mesmo que não corram o risco de desenvolver o câncer por conta de suas estruturas anatômicas, ainda podem desenvolver lesões verrucosas, além de transmitir para mulheres, as principais afetadas. Por conta disso, a vacinação nesse grupo da população é indispensável para que diminua o nível de pessoas infectadas e da incidência do câncer do colo do útero não só no Brasil, mas também no contexto mundial. (LEITE-ALMEIDA et al., 2014).

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em virtude dos fatos mencionados neste trabalho, uma vez que essa doença é transmitida por um vírus altamente contagioso, é de suma importância enfatizar a vacinação como uma medida preventiva contra a possível infecção pelo HPV. Além disso, é crucial destacar a eficácia das campanhas governamentais que promovem a administração da vacina antes do início da atividade sexual, visto que, essa abordagem tem demonstrado ser altamente necessária. Saber reconhecer as características da doença, como sintomas, análise das lesões, formas de transmissão, fatores de risco e tratamentos é uma maneira de conscientizar mulheres de todos os lugares, idades e escolaridades, para que realizem seus exames ginecológicos regularmente, a fim de rastrear a doença de forma precoce e garantir um tratamento eficiente, evitando que essa infecção evolua para o câncer do colo do útero.

Dado que este é um tópico de grande relevância para toda a sociedade, especialmente, para a saúde das mulheres, explorando informações clínicas relacionadas à detecção precoce da doença, com o intuito de reduzir cada vez mais o número de casos de câncer cervical e lesões intraepiteliais. Em uma estatística que mostra o câncer do colo do útero como a terceira forma mais letal de carcinoma entre as mulheres, é imperativo adotar medidas preventivas para combater a infecção, e o conhecimento sobre o tema representa uma das melhores maneiras de se precaver diante dessa situação.

## REFERÊNCIAS

BARBOSA, C.; ARRUDA, K. M. ARRUDA; PEREIRA, T. N. Apresentação da eficácia da vacina hpv distribuída pelo sus a partir de 2014 com base nos estudos future i, future ii, e villa et al. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 6, n. 1, p. 1–9, 2015.

CARDOSO, E. M. M. Aspectos históricos, fisiopatológicos e preventivos da infecção por papiloma vírus humano - HPV. **repositorio.ufmg.br**, 25 abr. 2017.

CASTELLSAGUÉ, X. et al. End-of-study safety, immunogenicity, and efficacy of quadrivalent HPV (types 6, 11, 16, 18) recombinant vaccine in adult women 24–45 years of age. **British Journal of Cancer**, v. 105, n. 1, p. 28–37, 31 maio 2011.

CIRINO, F. M. S. B.; NICHATA, L. Y. I.; BORGES, A. L. V. Conhecimento, atitude e práticas na prevenção do câncer de colo uterino e hpv em adolescentes. **Escola Anna Nery**, v. 14, n. 1, p. 126–134, mar. 2010.

DERCHAIN, S. F. M.; SARIAN, L. O. Z. Vacinas profiláticas para o HPV. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetria*, v. 29(6), p. 281-284, Jul. 2007.

DIAS, M. A. P.; FREITAS, B. A. DE A. Vacinação contra o papilomavírus humano (HPV) no Brasil: histórico e desafios / Vaccination against human papillomavirus (HPV) in Brazil: history and challenges. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 74787–74802, 2020. Inglês (Estados Unidos).

DIAS, I. C. C.; et al. Câncer de colo do útero, genotipagem do papiloma-vírus humano (HPV) em mulheres quilombolas de um município brasileiro: aceitabilidade da vacina. **Revista Caderno de pesquisa**, v. 21, n. especial, p. 01-11, Jul. 2014.

FEBRASGO - Informações sobre a Vacinação contra HPV. – 2023 - Disponível em: <<https://www.febasgo.org.br/pt/noticias/item/1621-informacoes-sobre-a-vacinacao-contra-hpv>>. Acesso em: 20 ago. 2023.

FERREIRA, H.; LALA, E. R. P.; MANSOUR, F. R. FREQUÊNCIA DE Papilomavirus humano (HPV) EM GESTANTES. **Biológicas & Saúde**, v. 7, n. 25, 30 nov. 2017.

GARBUGLIA, A. Human Papillomavirus in Head and Neck Cancer. **Cancers**, v. 6, n. 3, p. 1705–1726, 18 ago. 2014.

INCA – HPV: acesso a informações, perguntas frequentes – 2023. – Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/acesso-a-informacao/perguntas-frequentes/hpv>>. Acesso em: 23 jul. 2023. a

INCA - Nomenclatura Brasileira para Laudos Citopatológicos Cervicais. - Disponível em:<<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/nomenclatura-brasileira-para-laudos-citopatologicos-cervicais-2012.pdf>>. Acesso em: 23 jul. 2023. b

INCA - Incidência. – 2023. - Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/controle-do-cancer-do-colo-do-uterio/dados-e-numeros/incidencia>>. Acesso em 16 jul. 2023. a

JACINTO. *Citologia Clínica do Trato Genital Feminino*. [s.l.] **Thieme Revinter**, 2020.

KAJITANI, Naoko et al. Productive lifecycle of human papillomaviruses that depends upon squamous epithelial differentiation. **Frontiers in microbiology**, v. 3, p. 152, 2012. Acesso em: 22 maio 2023.

KARAMANOU, M. et al. From the humble wart to HPV: a fascinating story throughout centuries. **Oncology Reviews**, v. 4, n. 3, p. 133–135, 17 ago. 2010. Acesso em: 22 maio 2023.

LEITE-ALMEIDA, F. et al. A VACINA CONTRA O VÍRUS HPV PARA MENINAS: UM INCENTIVO À VIDA SEXUAL PRECOCE? **Linkscienceplace**, v. 1, n. 1, p. 49–71, 29 set. 2014.

LETO, Maria das Graças Pereira et al. Infecção pelo papilomavírus humano:

etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, p. 306-317, 2011. Acesso em: 22 maio 2023.

LIMA, D. Atlas de Citologia Patológica. 1º edição ed. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde, 2012.

MARMO-LUCON, A. et al. HPV na prática clínica. 1º edição ed. [s.l.: s.n.].

NAKAGAWA, J. T. T.; SCHIRMER, J.; BARBIERI, M. Vírus HPV e câncer de colo de útero. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 63, n. 2, p. 307–311, abr. 2010.

OLIVEIRA, A.K.; JACYNTHO C.M.; TSO, F.K.; BOLDRINI, N.A.; SPECK, N.M., PEIXOTO, R.A. et al. Infecção pelo HPV – Rastreamento, diagnóstico e conduta nas lesões HPV-induzidas. **Femina**. 2020;49(3):166-72.

RODRIGUES, A. D. et al. Comparação das técnicas de captura de híbridos e PCR para a detecção de HPV em amostras clínicas. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 45, n. 6, dez. 2009.

SILVA, E. R. DA et al. Diagnóstico molecular do papilomavírus humano por captura híbrida e reação em cadeia da polimerase. **Femina**, p. 181–184, 2015.

SOUSA, A. P. DE. **Cancro do colo do útero: tendências e estudos recentes**. Disponível em: <<https://bdigital.ufp.pt/handle/10284/2275>>. Acesso em: 24 ago. 2023.

TAQUARY, L. R. et al. Fatores de risco associados ao Papilomavírus Humano (HPV) e o desenvolvimento de lesões carcinogênicas no colo do útero: uma breve revisão. **CIPEEX**, v. 2, p. 855–859, 2018.

TOBIAS, G. C.; IWAMOTO, K. O. F. I.; TEIXEIRA, L. M. B. Estratégia de vacinação contra HPV. **Revista de Enfermagem UFPE online**, v. 11, n. 12, p. 5282, 17 dez. 2017.

Vinay Kumar, Abul Abbas e Jon Aster. Robbins & Cotran - **Patologia - Bases Patológicas das Doenças**. 10a Edição. Editora GEN Guanabara Koogan, 2023.

ZARDO, G. P. et al. Vacina como agente de imunização contra o HPV. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 19, p. 3799–3808, 1 set. 2014.

# MARCADORES MOLECULARES: APLICAÇÃO E ANÁLISE COMO FERRAMENTA DE IDENTIFICAÇÃO HUMANA

## MOLECULAR MARKERS: APPLICATION AND ANALYSIS AS A HUMAN IDENTIFICATION TOOL

Pamella Rodrigues da Silva<sup>1</sup>  
Carolina Batista Ariza Tamarozzi<sup>2</sup>

297

### RESUMO

Marcadores moleculares são amplamente utilizados na identificação humana, desde o ano de 1980 com a descoberta do DNA “*fingerprinting*” por Alec Jeffreys. Sua utilização se tornou indispensável no âmbito forense, devido sua capacidade de identificar indivíduos por meio de variações polimórficas, em regiões de alelos alternativos, ou seja, substituições, adições ou deleções de nucleotídeos que ocorrem no DNA durante sua replicação. Foram utilizados artigos e dados encontrados através de sites de bases de dados científicos, como Google Acadêmico, PubMed e SciELO, entre os anos de 2011 a 2022. Este trabalho bibliográfico relata os procedimentos que envolvem desde a coleta de amostras biológicas à extração, processamento e ampliações do DNA, abordando as atuais técnicas utilizadas na identificação humana através da amplificação por PCR e uso de biomarcadores de DNA como STR (*Short Tandem Repeats*), SNP (*Single Nucleotide Polymorphisms*), Indel e miniSTR, avaliando um perfil genético através do sistema CODIS. De modo a evidenciar a relevância de se estudar as diferentes técnicas biomoleculares, possibilitando que estas ofereçam modernização e melhoria durante a investigação, para que possam garantir um bom resultado na identificação. Levando em considerações questões como cuidados indispensáveis durante o manuseio das amostras, evitando assim a desnaturação de nucleotídeos e a utilização adequada de cada técnica biomolecular em consideração ao tipo de pesquisa, quantidade, estado e tipo da amostra encontrada, para assim garantir um melhor resultado.

**Palavras-chaves:** identificação humana; marcadores moleculares; STR; SNP; Indel.

### ABSTRACT

Molecular markers have been widely used in human identification, since the 1980s with the discovery of DNA “*fingerprinting*” by Alec Jeffreys. Its use has become indispensable in the forensic field, due to its ability to identify individuals through polymorphic variations, in regions of alternative alleles, that is, substitutions, additions or deletions of nucleotides that occur in DNA during its replication. Articles and data

---

<sup>1</sup> Discente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). E-mail: pamellarods@edu.unifil.br;

<sup>2</sup> Docente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). E-mail: carolina.ariza@unifil.br

found through scientific database sites, such as Google Scholar, PubMed and SciELO, between the years 2011 to 2022 were used. DNA amplifications, addressing current techniques used in human identification through PCR amplification and use of DNA biomarkers such as STR (Short Tandem Repeats), SNP (Single Nucleotide Polymorphisms), Indel and miniSTR, evaluating a genetic profile through the CODIS system. In order to show the consistency of studying the different biomolecular techniques, allowing them to be perfected and improved during the investigation, so that they can guarantee a good result in the identification. Taking into account issues such as indispensable care during the flight of the samples, thus avoiding the denaturation of nucleotides and the proper use of each biomolecular technique in consideration of the type of research, quantity, state and type of the sample found, in order to guarantee a better result.

**Keywords:** human identification; molecular markers; STR; SNP; Indel.

## 1 INTRODUÇÃO

Biomarcadores, ou marcadores biológicos, são termos usados para definir uma característica que é mensurada e avaliada como um indicador de um processo, seja fisiológico, patogênico ou até mesmo uma resposta farmacológica a uma intervenção terapêutica. Já um marcador molecular ou genético (que a partir deste ponto até o final do texto usaremos apenas como marcador molecular) é definido como qualquer sequência de DNA que apresenta variações, ou polimorfismos, e que pode ser detectada utilizando uma técnica molecular (SARASWATHY; RAMALINGAM 2011; KOWALCZYK et al., 2018).

Estes marcadores são utilizados para diversas finalidades, como no diagnóstico de câncer de bexiga (SORIA et al., 2019), diferenciação de câncer de tireoide (XING HAUGEN SCHLUMBERGER, 2013), no prognóstico de doença hepática (NIELSEN et al., 2019) e também no monitoramento do tratamento de doenças como esquizofrenia e depressão (PENG et al., 2018) e câncer esofágico (ZHOU; HOFSTETTER, 2020).

Os marcadores moleculares são bastante utilizados e valorizados no campo de identificação humana pela sua capacidade de diferenciar dois indivíduos (que não gêmeos monozigóticos) pelos seus perfis de regiões variáveis do DNA. A tecnologia de identificação humana pelo DNA teve seu início na década de 1980, com o desenvolvimento de marcadores de polimorfismos de comprimento de fragmento de restrição (do inglês: *restriction fragment length polymorphism* - RFLP), uma técnica

bastante informativa e confiável, utilizada para a construção do primeiro mapa molecular do genoma humano. Porém, limitações como necessidade de grandes quantidades de DNA de alto peso molecular, a baixa resolução em termos de heterozigosidade, uso de radioatividade e o surgimento da técnica de amplificação PCR (do inglês *polymerase chain reaction*), deram espaço à utilização de outros marcadores, conhecidos como STRs (do inglês *short tandem repeats*) ou microssatélites (GROVER; SHARMA, 2014).

Esses marcadores são uma classe de sequências repetitivas amplamente distribuídas em todos os genomas, inclusive humano. Essas sequências podem ser facilmente amplificadas pela técnica de PCR e visualizadas após eletroforese em matriz de agarose ou poliacrilamida (AVVARU et al., 2020).

Tendo em vista as informações apresentadas, este trabalho visa compilar informações importantes sobre os métodos e técnicas empregados para o estudo de marcadores STRs, além de outros marcadores alternativos, como metodologia empregada na identificação humana pelo DNA.

## 2 MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado com base em revisão bibliográfica sobre análise de marcadores moleculares do tipo STR, além de marcadores alternativos como SNP (do inglês *single nucleotide polymorphism*), indels (inserções e deleções) e miniSTRs na identificação humana. O levantamento dos materiais foi realizado através de sites de bases de dados científicos, como Google Acadêmico, PubMed e SciELO, utilizando como palavras-chaves: identificação humana, marcadores moleculares, STRs, SNP, indels e miniSTR. Foram adotados como critérios de exclusão artigos não relacionados ao tema e publicações que não estavam nos idiomas português e inglês. Foram utilizados artigos publicados, preferencialmente, no período de 2011 a 2022.

## 3 IDENTIFICAÇÃO HUMANA PELO DNA

A biologia molecular corresponde ao estudo do material genético e a sua estrutura, buscando compreender os seus produtos de expressão. Desse modo,

estuda os protótipos moleculares baseados em um aprofundamento genético e bioquímico. A principal função da biologia molecular é estudar os diversos sistemas celulares, analisando a interação entre DNA, RNA e proteínas (COX, 2012; LEITE et al 2013).

Juntamente com a genética, ela atua na investigação humana, por meio de análise de amostras biológicas contendo o material genético. O DNA pode ser extraído de sangue, ossos, sêmen, tecidos, órgãos, dentes, cabelos, unhas, saliva e outros tipos de fluidos biológicos (MUNIZ; SILVA, 2010).

No ano de 1980, o cientista Alec Jeffreys sugeriu que todos os indivíduos poderiam ser identificados a partir de padrões específicos por meio da análise de DNA (BERNATH et al., 2008). Em 1988, sua técnica foi usada oficialmente para resolver o caso Leicester, o primeiro solucionado através de exames de DNA. Desde então, vem sendo usado como ferramenta para o uso forense. As regiões do DNA analisadas são aquelas que apresentam maior variação individual e facilidade de estudo. Essas áreas são chamadas de hipervariáveis do DNA. Estas regiões polimórficas foram descritas por Alec Jeffreys, que, ao estudar um determinado gene, observou que estas regiões se diferenciam entre pessoas. Ele também notou que estas regiões estavam presentes em todo o genoma humano, e que através delas poderia definir o que ele mesmo chamou de “impressões digitais do DNA” ou “DNA *fingerprinting*” (BARBOSA, 2018; BERNATH 2008; JEFFREYS; BROOKFIELD; SEMEONOFF et al., 1985). O DNA *fingerprint* é um método de identificação que compara fragmentos de DNA, também conhecido como tipagem de DNA, ao observar os fragmentos, é possível identificar, pela sequência, se o DNA coletado pertence a um suspeito ou não.

Cerca de 3% do genoma humano é composto por repetições em tandem, cujas repetições são sequências de DNA não codificante que se repetem sucessivamente, da qual a diferenciação entre os indivíduos da mesma espécie se dá pelo número de repetições que cada indivíduo apresenta em um determinado locus de um par de cromossomos homólogos. Este tipo de herança relacionado ao número de repetições segue a lei da Herança de Mendel, assim como qualquer outro polimorfismo usado para fins forenses (PINHEIRO, 2015; VOET; PRATT, 2014).

Ocorreram grandes avanços na área da biologia molecular que possibilitaram a incorporação de novas técnicas e análises do DNA, permitindo a análise e um

número cada vez maior de amostras, de modo a identificar quais se encontram degradadas ou com poucas quantidades de amostras (FRUEHWIRTH et al., 2015). Técnicas como o Polimorfismo no Comprimento de Fragmento de Restrição (RFLP), Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), *variable number tandem repeat* (VNTR), *short tandem repeats* (STR), *DNA fingerprint* são mais utilizados para a identificação humana (KOCH et al., 2008).

### 3.1 Coleta e armazenamento de amostras, extração e amplificação do DNA

Antes de se realizar um teste de DNA em uma amostra, o DNA deve ser isolado de amostras biológicas. Estas podem constituir evidências de maior importância encontradas em cenas de crime são sêmen, urina, sangue, pelos, unhas, tecidos, dentes, saliva e restos mortais. Para cada tipo de amostra diferente existem passos para serem seguidos para a coleta, acondicionamento e a preservação desse material até que ele chegue para a análise no laboratório. Todo material sujeito a análise de DNA deverá, desde sua coleta até seu encaminhamento final, ser tratado de modo cuidadoso, pois são materiais de fácil degradação e contaminação, assim, podendo perder seu real valor para a identificação (GAERTNER 2011; LEITE et al., 2013).

O armazenamento de uma amostra deve ocorrer adequadamente para que esta não perca seu valor. Portanto, deve armazenar corretamente todos os materiais biológicos encontrados, para que não seja contaminado ou sofra alterações de fatores ambientais, como aumento de temperatura, variação de luminosidade e outros fatores que podem acarretar quebra e alteração dos nucleotídeos, impossibilitando a utilização do DNA (SCHNEIDER, 2004; LEITE et al., 2013). O armazenamento adequado deve ser feito de modo em que os materiais possam ser congelados a -20°C e para líquidos corpóreos deverá ser obtida a maior quantidade possível com seringa ou pipeta plástica e armazenada sob refrigeração a 4°C (MELO et al., 2010).

Amostras líquidas deverão ser coletadas com materiais próprios compostos de haste longa, flexível, swabs e materiais estéreis. Deverão secar em temperatura ambiente, longe da luz solar para evitar degradações. Amostras de tecido coletado devem ser mantidas em congelamento em nitrogênio líquido ou em uma solução de preservação de ácidos nucleicos (MELO et al., 2010; SHAROVA et al 2009). A

amostra de sêmen deve ser imediatamente resfriada e mantida entre 2°C e 8°C até a extração do DNA e sua análise pode ser realizada em sêmen seco, assim como em sêmen fixado em lâmina para citologia por técnicas de hibridização in situ. Isso permite a análise de amostras obtidas há 25 anos (MELO et al., 2010; HONDA, K. et al 1999).

A escolha da técnica de extração do DNA depende do tipo de amostra coletada e do estado no qual foi encontrado. Os métodos de extração consistem na quebra celular, precipitação das proteínas e isolamento do DNA (BUTLER et al., 2012).

Uma das técnicas mais utilizadas na genética forense é a de extração orgânica, que utiliza o Fenol e Clorofórmio para promover uma remoção do precipitado de proteínas, promovendo assim o isolamento do DNA. Este método apresenta baixo custo e um grande grau de pureza do DNA, porém apresenta um tempo de preparo muito grande, além de apresentar alto grau de toxicidade. Para que se tenha acesso ao DNA, é feita uma quebra celular, de modo a remover restos celulares, desproteinização do extrato celular e desnaturação, onde ocorre a separação e inativação das proteínas do extrato celular. Depois de desnaturar, as proteínas são removidas com uso de fenol e clorofórmio, e após esse processo o DNA é purificado e recuperado. As limitações desta técnica são pelo seu alto grau de toxicidade, podendo os seus solventes serem encontrados no DNA a ser analisado (LEITE, 2013).

Outra técnica bastante utilizada é a de resina ou beads magnéticos. Na qual consiste na ligação da resina ao DNA, de modo a separar de outros elementos da amostra que irão permanecer em solução aquosa. Esta técnica possui o poder de atrair as moléculas de DNA, mesmo que tenha uma grande quantidade de componentes celulares, ela funciona como um filtro. A principal desvantagem desta técnica consiste em uma necessidade de uma grande quantidade de amostra, para que assim tenha a ligação do DNA à resina (LEITE, 2013).

A amplificação do DNA por meio da PCR, tem se tornado uma ferramenta indispensável no estudo técnico-científico. Tal técnica pode ser usada no aspecto de análise forense, de modo a identificar suspeitos e vítimas, através de amostras encontradas em cenas de crimes e desastres (VOET; PRATT et al., 2014).

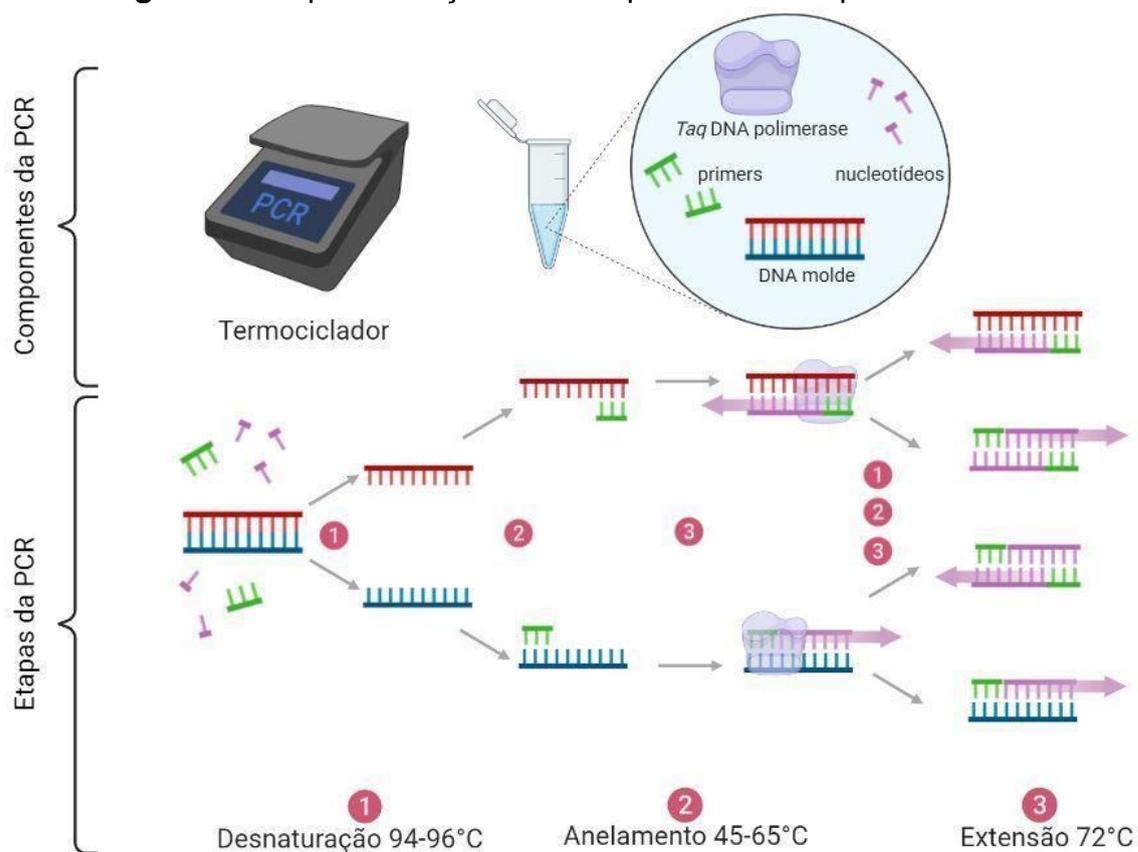
A PCR é uma técnica que permite a amplificação e análise de DNA utilizando pequenas quantidades de amostras, sendo assim extremamente útil nas investigações forenses (GAERTNER 2011, GUNN, WALSH, ROUX, 2014). O método

consiste na amplificação *in vitro* de uma sequência de DNA definida, utilizando oligonucleotídeos iniciadores (*primers*), específicos para a sequência alvo, apresentando de 15 a 25 nucleotídeos de extensão, que irão complementar as extremidades do segmento a ser amplificado (Figura 1). A PCR possui uma série de reações cíclicas, geralmente de 30 ciclos de amplificação, consistindo em três etapas: etapa de desnaturação, anelamento e de extensão (ALMEIDA, 2010; GAERTNER, 2011; FRUEWIRTH et al., 2015).

A desnaturação ocorre quando a molécula de DNA é aquecida a temperatura de 94 a 96°C, na qual as pontes de hidrogênio da dupla hélice se rompem, ocorrendo a separação das cadeias complementares. Depois, ocorre a hibridização dos *primers*, ligados a duas regiões: direto e reverso, a uma temperatura que pode variar de 45 a 65°C e deve ser previamente otimizada. O último passo é a polimerização onde a enzima DNA Polimerase catalisa a extensão da fita na direção 5' → 3', começando exatamente no *primer* incorporando o nucleotídeo apropriado (POTY et al., 2011). Uma cópia do DNA é sintetizada a partir de cada iniciador e o produto ao final das três etapas é usado como substrato para uma nova reação de amplificação, que é desenvolvida em sequência, com isso, o ciclo é repetido muitas vezes para obter milhares de cópias do fragmento desejado (MELLO; FONSECA-COSTA, 2005; ALMEIDA et al., 2010).

Por sua alta sensibilidade, fácil realização e pelo baixo custo, a PCR é uma das técnicas mais utilizadas, por permitir que seja realizada várias cópias de uma determinada região do DNA (VIEIRA 2011; OLIVEIRA et al 2018). A PCR revolucionou a identificação humana, de modo a obter milhares de cópias de um determinado *locus* presente em um pequeno fragmento de DNA, em um curto período de tempo. A amplificação do DNA pela PCR resulta em uma grande sensibilidade, de modo que seja possível analisar pequenas quantidades de amostras (MUNIZ E SILVA 2010; GAERTNER et at 2011).

**Figura 1** - Esquemática dos componentes e etapas da PCR.



Fonte: Imagem do autor.

Na identificação humana pelo DNA, a PCR pode ser utilizada para amplificar diferentes fragmentos simultaneamente em uma variação da PCR, conhecida como PCR multiplex. Essa amplificação produz uma mistura de moléculas de DNA que precisam ser separadas pela técnica de eletroforese, que pode ser realizada em géis de poliacrilamida ou agarose, mas comumente ocorre em ambiente capilar (BUTTLER, 2011).

### 3.2 Marcadores Moleculares

Para se ter a base de um perfil genético, é feita a análise de algumas regiões do DNA que apresentam uma maior variação e facilidade de estudo, estas são chamadas de marcadores moleculares ou polimorfismos de DNA (MORETI, 2009; FRUEWIRTH et al., 2015). Os polimorfismos de sequência são compostos por diferentes nucleotídeos, e suas variações são de regiões de alelos alternativos, ou seja, substituições, adições ou deleções de nucleotídeos (MUNIZ; SILVA, 2010).

O perfil genético se refere ao perfil de STRs, e a análise desses perfis em amostras biológicas permite a investigação do grau de parentesco biológico, a identificação de desconhecidos e até mesmo a identificação das espécies de animais em restos cadavéricos (AMORIM et al., 2015). Os STRs são comparados por meio de uma amostra referência e uma amostra questionada, na qual a amostra referência diz respeito aos suspeitos relacionados com o local do crime ou até mesmo vítimas (LIMA et al., 2018).

Em amostras de DNA muito degradadas não é possível obter um perfil genético através dos microssatélites, sendo utilizados então os SNPs. Em último caso, quando não se é possível obter um perfil genético com os marcadores citados, é realizada a análise do DNA mitocondrial. Por ter forma circular, o DNA mitocondrial não se degrada com facilidade em relação ao DNA nuclear. Possui cerca de quinhentas a duas mil cópias, assim aumenta a possibilidade de existir cópias em uma amostra muito degradada. E por ser de origem materna, o DNA mitocondrial também permite a identificação de pessoas de mesma origem materna (HOFSTATTER et al., 2013).

### **3.3 Short tandem repeats (STRs)**

Nos dias de hoje, a maioria das investigações é feita pela análise dos STRs, sendo que estes marcadores são considerados uma importante e confiável ferramenta disponível para as análises de DNA que envolvam identificação humana (TAN et al., 2013). Os STRs de maior importância forense são os que apresentam maior polimorfismo (maior número de alelos), menor tamanho, maior frequência de heterozigotos e baixa frequência de mutações (LEITE, 2013).

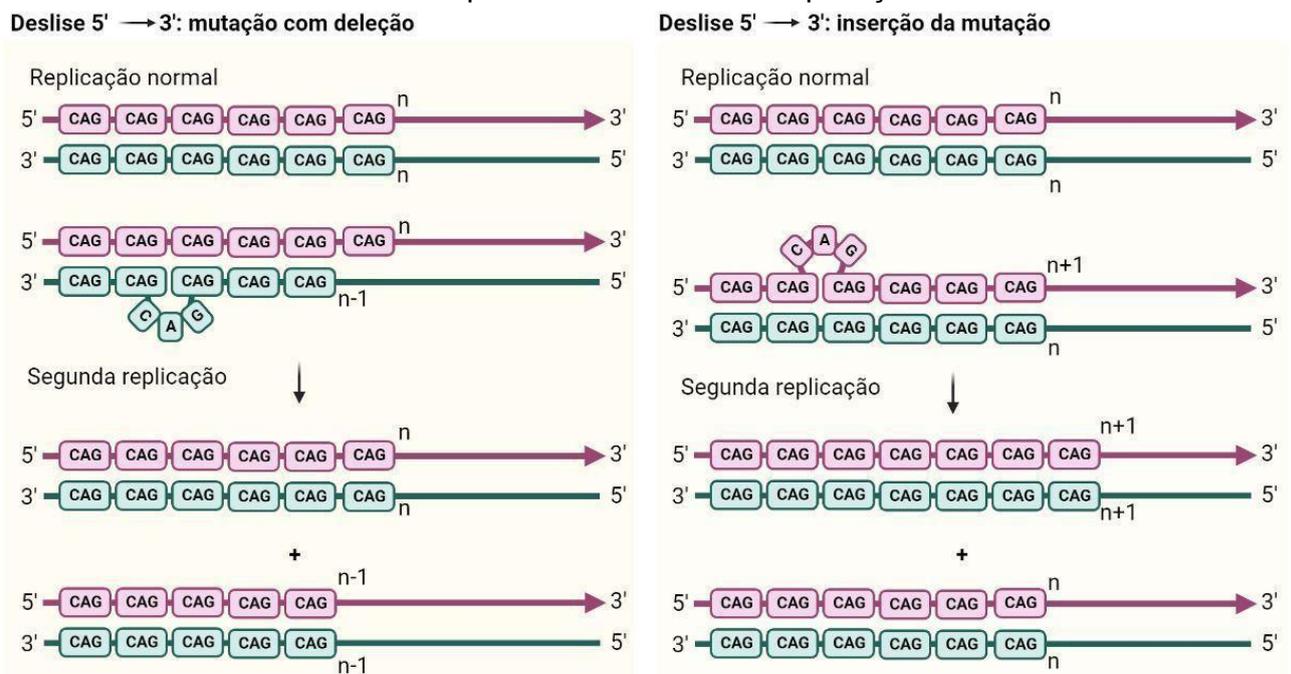
Os marcadores STR são trechos de DNA que apresentam variações entre 2 e 7 pares de bases (pb), os quais são constituídos de nucleotídeos que apresentam sequência repetidas em tandem. Cerca de 3% de todo genoma humano é composto por esses segmentos, que se caracterizam por serem repetições sucessivas sem o propósito de codificação. É através dessas repetições que, analisando o número expresso dessas sequências repetidas, se torna possível a diferenciação entre indivíduos (CORTE-REAL et al., 2015).

A denominação dos marcadores STR está relacionada conforme a sua

localização cromossômica ou segundo o gene ao qual se associa. Os marcadores STR são empregados na identificação humana por conta do seu poder de discriminação, o que designa a diferenciação genética é a utilização de *loci* altamente polimorfos. Para essa diferenciação, pode-se analisar os marcadores individualmente ou em múltiplos *loci* simultaneamente adquiridos, visto que possuem alelos de tamanhos próximos, podendo ser amplificados por PCR ou multiplex PCR (CHEN, 2012; CORTE-REAL et al., 2015.) O genótipo dos *loci* de marcadores STR podem ser homocigotos, onde apresentam o mesmo número de repetições em ambos os alelos, ou heterocigóticos, apresentando variações na quantidade de repetições (CHEN, 2012).

O mecanismo de formação dos STRs se dá por meio do deslizamento e realinhamento errôneo da DNA polimerase durante a replicação do DNA (Figura 2). Dessa maneira, o número de repetições no local pode ser reduzido ou aumentado a cada replicação, conseqüentemente tem a formação de novos alelos (MACHADO, 2008; CHEN, 2009; FERREIRA, 2011).

**Figura 2** - Esquemática do mecanismo de formação do polimorfismo através do deslizamento da DNA polimerase durante a replicação do DNA

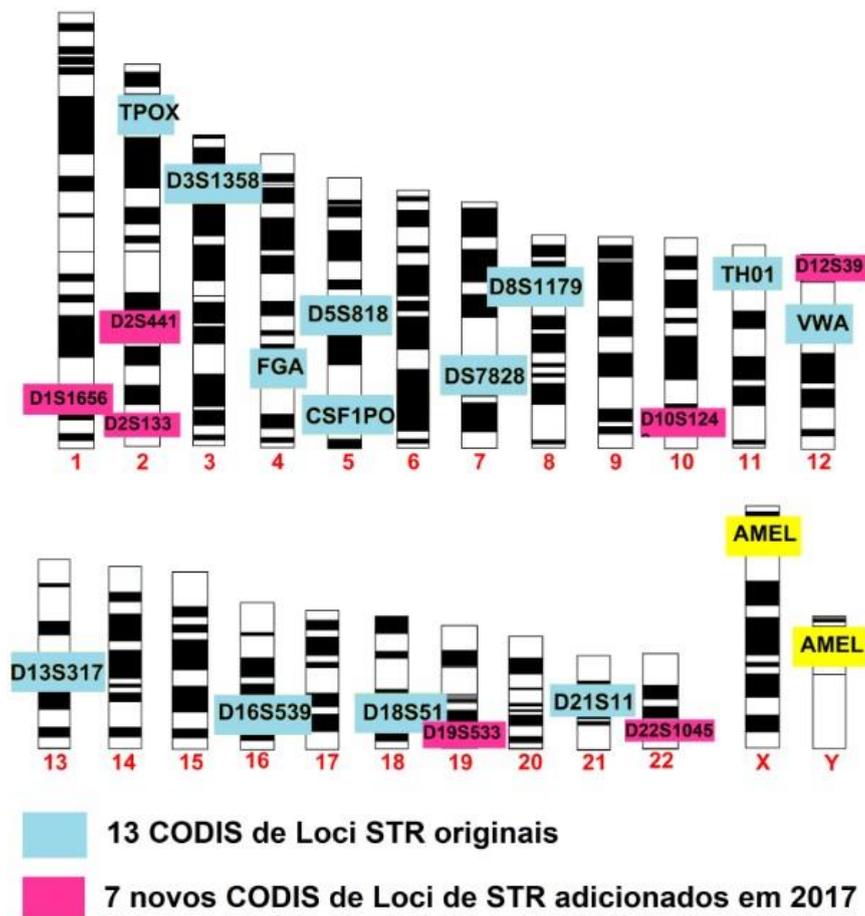


Fonte: Imagem do autor

No final dos anos 90, foi criado pelo FBI o CODIS (Sistema de índice de DNA combinado), um banco de dados de perfis genéticos de DNA extraídos de evidências biológicas coletadas em cenas de crime e de indivíduos condenados. Este sistema adota e recomenda uma série padrão de *loci* STRs para resolução de casos e que são seguidos pelos laboratórios de genética forense em vários países (LEITE, 2013; EKERT, 2017; MACHADO 2017; OLDONI et al., 2019). Inicialmente foi recomendada uma quantidade mínima de 13 STRs. Contudo, recentemente foi sugerida uma quantidade de, pelo menos, 20 marcadores, apontando que os 13 *loci* são eficientes somente em casos em que o material biológico esteja em quantidade suficiente e bem conservado (MACHADO, ARAUJO, 2017).

No início de 2015, o FBI anunciou que o projeto de validação para *Loci* Core CODIS adicionais havia sido concluído e que sete *loci* adicionais seriam acrescentados ao CODIS Core em janeiro de 2017, conforme descrito na figura 3 (HARES, 2015). No Brasil, foi padronizada a utilização do CODIS de 13 *loci* de STR nos exames de perícia criminal, desde 2006, determinado pelo Ministério da Justiça, através da Secretaria Nacional de Segurança Pública (MONTEIRO; OLIVEIRA; CARVALHO et al., 2019).

**Figura 3** - Representação dos 13 principais *loci* e 7 novos *loci* adicionados em 2017, utilizados na identificação humana.



Fonte: imagem do autor (2022)

### 3.4 Marcadores alternativos: SNP, Indel e miniSTR (SNP)

#### 3.4.1 Single nucleotide polymorphism (SNP)

Os SNP são polimorfismos em um único nucleotídeo, decorrente de uma mutação pontual, originando uma variação em um único par de bases. Eles são consideravelmente abundantes no genoma, e acredita-se que a frequência destes marcadores seja cerca de um SNP para cada 150 pb, apresentando uma taxa de mutação muito baixa quando comparada ao STR. Essa característica facilita nos casos onde há incompatibilidade genética observada pelo uso de STR autossômicos (CORTE-REAL et al., 2015).

Os marcadores SNP são, na maioria das vezes, bialélicos, ou seja, são encontradas apenas duas variantes em uma espécie. A sua maior vantagem em

relação aos STR é o tamanho dos produtos de PCR, que apresentam menos de 100 pares de bases, quando comparados com os 300 a 400 pares de bases dos STR, possibilitando assim, o seu uso em material com DNA degradado. No entanto, são mais laboriosos e muito menos discriminatórios, visto ser necessário 45 a 50 *loci* SNP, para um resultado discriminatório comparável a 13 a 15 *loci* STR (ZIETKIEWICZ et al., 2011).

A característica bialélica dos SNPs, frente ao multi-alelismo dos STRs, faz com que sejam menos informativos para fins de identificação e que a interpretação de amostras com misturas ou contaminação seja limitada. No entanto, os SNPs apresentam algumas vantagens para aplicações forenses em relação aos STRs, como: a) taxa de mutação muito baixa; b) produtos de amplificação pequenos, podendo possuir a partir de 33 pares de bases; c) bons resultados em análise de amostras degradadas; d) capacidade de previsão de origem biogeográfica; e) provimento de informações fenotípicas (VIRMOND, 2016; BUTLER, 2005; CANTURK et al., 2014).

No âmbito forense, pode-se classificar os SNPs como: (1) SNPs informativos de linhagem - presente em DNAm e cromossomo Y, no qual são utilizados em casos de desaparecimentos e desastre de massa, de modo a completar a análise de STR; (2) SNPs informativos de ancestralidade (denominados de AIMs); (3) SNPs informativos de fenótipos, usado na interferência de características físicas individuais, auxiliando na resolução de crimes; (4) SNPs para identificação - usado para identificação, possibilitando a individualização ou a exclusão de pessoas que não poderiam ser fonte de uma determinada amostra (BUDOWLE, VAN DAAL, 2008; CANTURK et al., 2014).

#### 3.4.2 Marcadores de inserção/deleção (indels)

Os polimorfismos do tipo indel são polimorfismos de comprimento, gerados em decorrência da inserção ou deleção de um ou mais nucleotídeos em algum local do genoma (FRANCEZ et al., 2011). Caracterizado pela elevada estabilidade devido a uma baixa taxa mutacional e, por isso, são considerados como marcadores de evolução lenta (BASTOS-RODRIGUES et al., 2006).

A maior parte dos polimorfismos indel são encontrados na forma bialélica, mas

podem ser encontrados em forma multialélica, sendo composto somente do alelo inserção e/ou deleção do segmento (NUSSBAUM et al., 2002). Para os *loci* indel bialélicos três genótipos são possíveis: homozigose do alelo inserção (ii), homozigose do alelo deleção (dd) e heterozigose (id).

Os indel bialélicos estão atualmente distribuídos em cinco classes: (1) inserção/deleção de uma base; (2) expansão monomérica de uma base; (3) expansões múltiplas de unidades repetitivas de 2-15 pb, onde incluem-se os polimorfismos do tipo STR; (4) inserção de transposons e (5) indels com sequências randômicas, em que as bases não seguem uma ordem ou padrão (MILLS et al., 2006).

Polimorfismos indels bialélicos são os mais abundantes em número, depois dos SNPs, correspondendo a aproximadamente 8% dos polimorfismos humanos, o que significa uma base polimórfica para cada 7,2 kb de DNA. No genoma, encontram-se amplamente distribuídos, seja em regiões codificadoras ou não-codificadoras. Quando encontrados em regiões codificadoras podem existir variações proteicas qualitativas e/ou quantitativas, havendo alteração fenotípica. No entanto, os polimorfismos são mais frequentemente encontrados em regiões não-codificadoras, nesse caso, sem consequências para o funcionamento dos genes, não havendo alteração das proteínas (WEBER, 2002; MILLS, 2006; HUANG et al., 2014).

Os indels passaram a chamar a atenção da comunidade forense por apresentarem um elevado potencial como marcadores genéticos nesta área. Suas características combinam com os SNPs, como a capacidade de analisar fragmentos curtos (menores de 250 pb) e baixas taxas de mutação ( $10^{-9}$ ), com a facilidade da genotipagem do STR, ou seja, necessita-se de uma única PCR seguida da detecção por eletroforese. Com isso, o número de reações químicas necessárias para uma análise é menor, o que facilita os processos e diminui os custos (PEREIRA et al., 2012)

Em 2009, foi desenvolvido um sistema multiplex formado por 38 marcadores mini-Indels autossômicos bialélicos destinados à identificação humana, utilizados nos casos em que os STRs não proporcionam informações suficientes, por gerarem amplicons mais curtos. Deste modo, os indels se tornaram uma nova estratégia no campo genético forense por permitir avaliar proporções de ancestralidade ou origem geográfica de um dado indivíduo, de modo a direcionar o doador/autor da amostra biológica. Entretanto, a desvantagem da utilização dos indels para uso forense é o

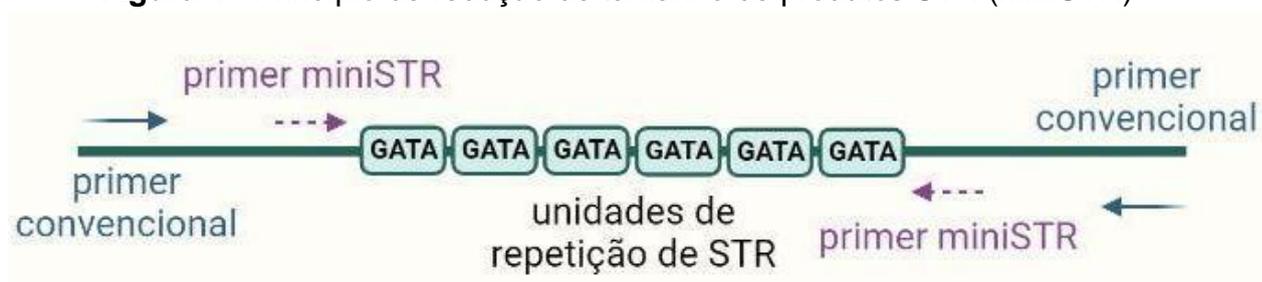
fato de não estarem suficientemente estudados (SANTOS et al., 2010; PENA 2011; PEREIRA et al., 2012).

### 3.4.3 MiniSTRs

O pequeno tamanho dos alelos STR (100 a 400 bp) em comparação com os alelos VNTR de minissatélites (400 a 1000 bp) torna os marcadores STR melhores candidatos para uso em aplicações forenses onde o DNA degradado é comum. A amplificação por PCR de amostras de DNA degradado pode ser melhor realizada com tamanhos de produto menores. Esses amplicons de STR de tamanho reduzido são frequentemente chamados de miniSTRs (BUTTLE, 2011).

Os miniSTR não são um tipo diferente de variação genética. Os *primers* para a detecção das variações de STR são redesenhados para se posicionar em uma região mais próxima das unidades de repetição, como demonstrado na figura 4. Dessa maneira, DNAs altamente degradados, que geram perfis incompletos com os *primers* convencionais, podem ser amplificados (BOELEN et al., 2021).

**Figura 4** - Princípio de redução de tamanho de produtos STR (miniSTR)



Fonte: Imagem do autor.

Os miniSTRs apresentam uma compatibilidade com os bancos de dados CODIS dos STRs, no entanto alguns *loci* CODIS não podem ser transformados em fragmentos de amplificação menores. Deste modo, foi desenvolvido novos miniSTRs, chamados Non-CODIS, que podem auxiliar na análise de DNA degradado (COPLE; BUTLER, 2005; COPLE, 2012).

Butler, Shen e McCord publicaram em 2003 um conjunto de *primers* miniSTR que permite a redução máxima no tamanho de todos os 13 *loci* CODIS STR, juntamente com os *loci* D2S1338, Penta D e Penta E encontrados em kits comerciais

de STR. Além disso, foi recomendado pela European DNA Profiling Group (EDNAP) a adição dos marcadores de MiniSTR D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677 ao sistema já utilizado de identificação humana (DIXON; GILL et al., 2006; UNSAL et al., 2011).

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Desse modo, pode-se concluir que a utilização de marcadores moleculares têm ganhado cada vez mais espaço nas questões investigativas voltadas à resolução de crimes e identificação humana. As técnicas aplicadas e os métodos progrediram a ponto de não colocar em dúvida a admissibilidade dos dados quando estes forem coletados e analisados de maneira adequada, com o surgimento de técnicas para avaliação de características genéticas de indivíduos através de estudos do DNA, os testes tradicionais foram sendo sistematicamente substituídos, dando-se ao início de uma nova e significativa fase de desenvolvimento da Medicina Forense.

Deve ser levado em conta a padronização durante coleta e manuseio de amostras de forma cuidadosa, a fim de garantir uma alta qualidade e prevenir que ocorra contaminação e/ou degradação do material, evitando resultados errôneos.

Além disso, O estudo dos polimorfismos de biomarcadores apresentados baseados na PCR são os mais adequados para as análises dos vestígios que rotineiramente aportam nos laboratórios forenses voltados a resolução de crimes e identificação de cadáveres, além de serem utilizados em laboratórios convencionais para testes de paternidade e ancestral.

A utilização do biomarcador STR se mostra mais eficaz por ocorrer com maior frequência na população, de modo a trazer resultados mais precisos, sendo assim mais utilizado pelos laboratórios forenses. Entretanto, não deve ser descartada a utilização de outros biomarcadores alternativos, como SNP, Indel e MiniSTR, levando em consideração o tipo de amostra e quantidade encontrada, como em caso de amostras degradadas. Além de poderem ser utilizados em casos de informações complementares, como na utilização do SNPs em informações fenotípicas ou quando a utilização do STR não for suficiente.

## REFERÊNCIAS

- BASTOS-RODRIGUES, L., PIMENTA, J. R., PENA, S. D. J. The genetic structure of human populations studied through short insertion-deletion polymorphisms. **Annals of Human Genetics**. 70: 658-665. Setembro, 2006. *pubmed*.
- BOELEN, D., MARIOT, R. F., GHEMRAWI, M., KLOOSTERMAN, A. D., McCORD, B. R. The development of miniSTRs as a method for high-speed direct PCR. **Electrophoresis**. 42(12-13):1352-1361. Julho, 2021.
- BUTTNER, J. M. **Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology**. Países Baixos: Elsevier Science. 2011.
- BUTLER J.M, Hill C.R. Biology and genetics of new autosomal STR loci useful for forensic DNA analysis. **ForensicSci**. Rev 24:15, 24p. 2012.
- BUTLER, J. M. **Short tandem repeat analysis for human identity testing**. Current Protocols in Human Genetics. 2005.
- CANTURK KM, EMRE R, KINOGLU K, BASPINAR B, SAHIN F, E OZEN M. **Current status of the use of single-nucleotide polymorphisms in forensic practices**. Genet Test Mol Biomarkers. 2014.
- CHEN, K. **Microsatellite DNA: Population Genetics and Forensic Applications**. Tested Studies for Laboratory Teaching Proceedings of the Association for Biology Laboratory Education, v. 33, p.8-30. 2012.
- COBLE, M. D.; BUTLER, J. M. Characterization of new miniSTR locos to aid analysis of degraded DNA. **Forensic Sciences**. 50(1):43-53. Janeiro, 2005.
- COBLE, Michael D.. Capillary Electrophoresis of MiniSTR Markers to Genotype Highly Degraded DNA Samples. **Methods In Molecular Biology**. 830:31-42. Dezembro, 2011. *pubmed*.
- CORTE-REAL, F; VIEIRA, D. N. **Princípio de Genética Forense**. Imprensa Da Universidade De Coimbra. Outubro, 2015.
- DOUGLAS R Hares. **Expanding the CODIS core loci in the United States**. ForensicSci. Int. Genetics, 17: 33-34, 2015.
- FRANCEZ, P. A. C., RIBEIRO-RODRIGUES, E. M., VELASCO, A. M., SANTOS, S. E. **Insertion-deletion polymorphisms - utilization on forensic analysis**. International Journal of Legal Medicine. 2011.
- FONDEVILA, M.; PHILLIPS, C.; SANTOS, C.; PEREIRA, R.; GUSMÃO, L.; CARRACEDO, A.; BUTLER, J. M.; LAREU, M. V.; VALLONE, P. M. **Forensic performance of two insertion-deletion marker assays**. International Journal of Legal Medicine, v. 126, p. 725-737. Junho, 2012. *Pubmed*

- HUANG, J., LUO, H., WEI, W., HOU, Y. A novel method for the analysis of 20 multi-Indel polymorphisms and its forensic application. **Electrophoresis**. Fevereiro, 2014. *Pubmed*
- HONDA K, ROEWER L, DE KNIJFF P. Male DNA typing from 25-year-old vaginal swabs using Y chromosomal STR polymorphisms in a retrial request case. **J Forensic Sci**. 44(4):868-72. Julho, 1999. *Pubmed*
- ISOLA, J.; DE VRIES, S.; CHU, L. **Analysis of changes in DNA sequence copy number by comparative genomic hybridization in archival paraffin-embedded tumor samples**. *Am J Pathol*, v. 145, n. 6, p. 1301-1308. Dezembro, 1994.
- JEFFREYS, A. J., BROOKFIELD, J. F., SEMEONOFF, R. **Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints**. *Nature*. Julho, 1985. *Pubmed*
- KIDD KK, et al., Developing a SNP panel for forensic identification of individuals. **Forensic Sci Int**. 164(1):20-32. Dezembro, 2006.
- KOWALCZYK, M. **Molecular markers used in forensic genetics**. *Med Sci Law*, 58(4):201-209. Setembro 2018. *pubmed*.
- LEITE, VIVIANE DA SILVA. **USO DAS TÉCNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR NA GENÉTICA FORENSE**. Curso de Perícias Forenses, Universidade de Pernambuco, Camaragibe. 2013.
- MELO, MURILO REZENDE; MARTINS, ALVARO RODRIGUES; BARBOSA, ISMAR VENÂNCIO; ROMANO, PATRICIA; SHCOLNIK, WILSON. Coleta, transporte e armazenamento de amostras para diagnóstico molecular. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. S.L. 46(5):375-381. Outubro. 2010. *FapUIFESP. Scielo*.
- MILLS RE, LUTTIG CT, LARKINS CE, BEAUCHAMP A, TSUI C, PITTARD WS, DEVINE SE. An initial map of insertion and deletion (INDEL) variation in the human genome. **Genome Res**. 16(9):1182-90. Setembro, 2006. *Pubmed*
- NUSSBAUM, R. L., MCLNNES, R. R., WILLARD, H. F. THOMPSON & THOMPSON. **Genética médica**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2002.
- SANTOS, NEY P.C.; RIBEIRO-RODRIGUES, ELZEMAR M.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, ÂNDREA K.C.; PEREIRA, RUI; GUSMÃO, LEONOR; AMORIM, ANTÓNIO; GUERREIRO, JOÃO F.; ZAGO, MARCO A.; MATTE, CECÍLIA; HUTZ, MARA H.. Assessing individual interethnic admixture and population substructure using a 48-insertion-deletion (INSEL) ancestry-informative marker (AIM) panel. **Human Mutation**. S.L. 31(2):184-190. Fevereiro, 2010.
- SARASWATHY, N; RAMALINGAM, P. **Genome mapping**. Concepts and Techniques in Genomics and Proteomics, Woodhead Publishing. Julho, 2011.
- SANTOS, N. P.; RIBEIRO-RODRIGUES, E. M.; SANTOS, A. K. C. R. DOS;

PEREIRA, R.; GUSMÃO, L.; AMORIM, A.; GUERREIRO, J. F.; ZAGO, M. A.; MATTE, C.; HUTZ, M. H.; SANTOS, S. E. B. Assessing individual interethnic admixture and population substructure using a 48-insertion-deletion (INDEL) ancestry-informative marker (AIM) panel. **Human Mutation**. 31(2):184-90. Fevereiro, 2010. *Pubmed*

SHAROVA LV, SHAROV AA, NEDOREZOV T, PIAO Y, SHAIK N, KO MS. Database for mRNA half-life of 19 977 genes obtained by DNA microarray analysis of pluripotent and differentiating mouse embryonic stem cells. **DNA Research**. 16(1):45-58. Fevereiro, 2009. *Pubmed*

SCHNEIDER, Peter M.; MARTIN, Peter D.. Criminal DNA databases: the european situation. **Forensic Science International**. 119(2):232-8. Junho 2001. *Pubmed*

ÜNSAL, TUĞBA; FILOĞLU, GÖNÜL; SIPAHI, ELIF; ALTUNÇUL, HAVVA; RAYIMOĞLU, GÜLTEN. NEW miniSTR loci D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677 validation and optimization on blood samples. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**. 3(1):473-474. Dezembro, 2011.

VIRMOND, MARINA BARREIROS; ROBERT, ANNY WALOSKI; BRITO, PRISCILA BITENCOURT; MASSUDA, THIAGO YUITI CASTILHO. Fenotipagem forense pelo DNA através de SNPs. **Revista Brasileira de Criminalística**. S.L. 5(2):37-47. Julho, 2016.

WEBER, JAMES L.; DAVID, DONNA; HEIL, JEREMY; FAN, YING; ZHAO, CHENGFENG; MARTH, GABOR. Human Diallelic Insertion/Deletion Polymorphisms. **The American Journal Of Human Genetics**. 71(4):854-62. Outubro, 2002.

# TERAPIA LARVAL: TRATAMENTO ALTERNATIVO DE FERIDAS CRÔNICAS COM LARVAS NECRÓFAGAS

## LARVAL THERAPY: ALTERNATIVE TREATMENT OF CHRONIC WOUNDS WITH NECROPHAGE LARVAE

Bruna Gil Aguiar<sup>1</sup>  
Bruna Karina Banin Hirata<sup>2</sup>  
Newton Hashimoto<sup>3</sup>

316

### RESUMO

A terapia larval (TL) ou larvoterapia consiste na aplicação de larvas vivas desinfetadas de moscas necrófagas, obtidas em laboratórios, sobre lesões de difícil cicatrização como úlceras de estase venosa, feridas isquêmicas, úlceras do pé diabético, lesões por pressão e feridas infectadas, principalmente, por microrganismos multirresistentes formadores de biofilmes. A TL é uma técnica de tratamento muito eficaz para as lesões crônicas e, além disso, é um método barato e fácil de usar, com poucos relatos de efeitos adversos. Essa terapêutica tem como finalidade auxiliar no processo cicatricial das feridas, a partir da remoção de secreção e do tecido desvitalizado (biodesbridamento). Além disso, as larvas agem inibindo o crescimento de microrganismos patogênicos no leito da ferida, mediante a excreção e secreção de substâncias bactericidas. O presente estudo visou expor uma visão geral da terapia larval enquanto modalidade terapêutica alternativa para lesões de difícil cicatrização, as quais não obtiveram sucesso com as terapias tradicionais como o desbridamento cirúrgico e a antibioticoterapia. Dessa forma, a larvoterapia pode ser considerada uma possibilidade de tratamento para feridas crônicas visando uma abordagem multidisciplinar que inclui maior conhecimento dos profissionais da área de saúde, a divulgação do uso medicinal das larvas, buscando expandir o uso da terapia larval em nosso país.

**Palavras-chave:** desbridamento biológico; bioterapia; biocirurgia; tecido necrótico; larvas histiófagas.

### ABSTRACT

Larval therapy (LT) or maggot therapy consists of disinfected necrophagous flies live larvae application obtained in laboratories on difficult-to-heal lesions such as venous stasis ulcers, ischaemic wounds, diabetic foot ulcers, pressure injuries and infected wounds mainly by multidrug-resistant biofilm-forming microorganisms. LT is a very effective treatment technique for chronic injuries and, in addition, it is an inexpensive and easy-to-use method with only few reports of adverse effects. This therapy aims to

<sup>1</sup> Discente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). E-mail: bruna.gil@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Professora Co-orientadora. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Ciências Básicas da Saúde. Laboratório de Imunogenética (LIG-UEM). E-mail: bkbhirata2@uem.br

<sup>3</sup> Professor Orientador. Docente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). E-mail: newton.hashimoto@unifil.br

assist in the healing process of wounds, from the removal of secretion and devitalized tissue (biodebridement). In addition, the larvae acts by inhibiting the growth of pathogenic microorganisms in the wound bed through the excretion and secretion of bactericidal substances. The present study aims to present an overview of larval therapy as an alternative therapeutic modality for difficult-to-heal lesions, which have not been successful with traditional therapies such as surgical debridement and antibiotic therapy. In this way, maggot therapy can be considered a possibility of treatment for chronic wounds aiming at a multidisciplinary approach that includes greater knowledge of health professionals, the dissemination of larvae medicinal use, seeking to expand the use of larval therapy in our country.

**Keywords:** biodebridement; biotherapy; biosurgery; necrotic tissue; histiophagous larvae.

## 1 INTRODUÇÃO

As feridas crônicas são uma condição clínica caracterizada como qualquer interrupção na continuidade de um tecido corpóreo, representada por uma lesão de difícil cicatrização que ultrapassa a duração de seis semanas. Dentre elas destacam-se por sua maior prevalência: a úlcera por pressão (UPP), a úlcera vasculogênica crônica (UVC) e a úlcera diabética (VIEIRA; ARAÚJO, 2018).

Diversos fatores causam um retardo no processo de cicatrização e agem sinergicamente para o surgimento das feridas crônicas, sendo os principais fatores descritos na literatura: o aumento da expectativa de vida com consequente elevação da prevalência de doenças crônicas como diabetes *mellitus* (DM); hipertensão arterial sistêmica (HAS); neuropatias; hipóxia tecidual causada principalmente pelo tabagismo; assim como condições de imobilidade prolongada; e desnutrição (VIEIRA; ARAÚJO, 2018).

Considerado um problema de saúde pública, essas lesões acometem de 1 a 3% da população mundial, e causam significativo impacto no âmbito psicossocial e econômico devido à natureza incapacitante, à necessidade de terapêutica prolongada e ao alto índice de recidiva, contribuindo, dessa forma, para a elevação da taxa de morbimortalidade (GARCIA et al., 2021; VIEIRA; ARAÚJO, 2018).

Sabe-se que a qualidade de vida dos pacientes portadores de feridas crônicas é negativamente afetada pela mudança da rotina exigida pelo tratamento. O isolamento social é observado principalmente em idosos com úlceras crônicas nos

membros inferiores (VIEIRA; ARAÚJO, 2018). Nesse sentido, a impossibilidade de mobilização, a presença de dor e a necessidade de auxílio de outros para realizar as atividades diárias, gera, nesse paciente, um sentimento de perda da capacidade funcional, da autonomia e do papel do “eu” na sociedade (ROMEYKE, 2021).

Atualmente, os tratamentos clínicos para as feridas crônicas incluem as terapias tradicionais e terapias alternativas. Os pré-requisitos indispensáveis para escolha do método mais adequado a cada paciente envolve uma abordagem e avaliação integral, a aceitação do paciente, bem como a compreensão e envolvimento da pessoa, familiares e cuidadores no planejamento e execução da terapêutica (MASIERO, 2019).

As terapias tradicionais para o tratamento de feridas crônicas compreendem diferentes métodos de desbridamento: cirúrgico, mecânico, autolítico (hidrogel), enzimático (por exemplo, accuzyme, colagenase) (TOMBULTURK; KANIGURSULTUYBEK, 2021) e têm como objetivo a remoção de tecidos desvitalizados, material necrótico, tecidos infectados e a eliminação de microrganismos (BRASIL, 2021).

Como terapias alternativas há relatos na literatura do uso tópico de mel de Ulmo (*Eucryphia cordifolia*) associado à administração de ácido ascórbico no tratamento de úlceras venosas (CALDERON et al., 2015). Além desse, existem os cremes à base de papaína, oriunda do látex do mamoeiro *Carica papaya*, que possuem ação desbridante e tem importante ação anti-inflamatória (LEITE et al., 2012). Plantas medicinais, como o extrato de bioativos de *Calendula officinalis*, também têm sido amplamente usados em preparações tópicas no tratamento de úlceras de pressão com resultados significativos na redução da colonização dessas feridas, devido às propriedades antifúngicas e antibacterianas desse fitoterápico (BUZZI; FREITAS; WINTER, 2016).

Estas terapias oferecem novas alternativas ao tratamento de doenças de pele, possibilitando o acesso aos cuidados de saúde e permitindo ultrapassar limitações das terapias modernas, como os elevados custos e o aumento da resistência bacteriana ante ao uso indiscriminado de antibióticos (MASIERO, 2019).

O desbridamento biológico (terapia larval) consiste na aplicação de larvas vivas e previamente esterilizadas, de algumas espécies de moscas sobre o leito da ferida

(FRANCO, 2010).

Dessa forma, o presente trabalho objetivou discutir o uso da terapia larval como modalidade terapêutica alternativa no processo de desbridamento e cicatrização de feridas crônicas, com ênfase em seus mecanismos de ação e principais indicações terapêuticas.

## 2 METODOLOGIA

Para a realização desta pesquisa, o método baseou-se em uma revisão sistemática bibliográfica de artigos de periódicos e documentos científicos obtidos nas bases de dados eletrônicos da National Center for Biotechnology Information (NCBI), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Scientific Electronic Library Online (SciELO) e Biblioteca Virtual da Saúde (BVS). Foram selecionados, preferencialmente, artigos publicados entre os anos de 2009 a 2022, nos idiomas espanhol, português e inglês, envolvendo humanos e animais. Para a pesquisa nas bases de dados utilizou-se os seguintes descritores: terapia larval, feridas crônicas, larvas necrófagas, desbridamento, bioterapia, tecido necrótico.

## 3 DESENVOLVIMENTO

### 3.1 Definição e História da Terapia Larval

A terapia larval (TL), também conhecida como biocirurgia, é um método de desbridamento biológico seletivo no qual larvas vivas e estéreis de moscas necrófagas (geralmente da ordem Diptera, família *Calliphoridae*) são usadas para remover tecidos necróticos e/ou infectados de feridas crônicas (RAPOSIO et al., 2017).

Este tratamento, por meio da limpeza biológica, tem como finalidade reduzir o número de microrganismos da afecção, minimizar a dor, diminuir os odores, promovendo a cicatrização dos tecidos sadios (RAFTER, 2013; SHERMAN, 2014).

O uso terapêutico de larvas de mosca varejeira remonta aos primórdios da civilização (SILVA, 2020; TOMBULTURK; KANIGUR-SULTUYBEK, 2021).

Evidências históricas documentam a prática da larvoterapia por diferentes culturas, dentre elas os curandeiros das tribos Aborígene Ngemba de Nova Gales do

Sul, a tribo Hill do norte de Mianmar (Birmânia) e, sobretudo, os Maias da América Central (FRANCO, 2010; RAFTER, 2013).

Ambroise Paré, cirurgião francês, em 1557, fez um dos primeiros relatos sobre os efeitos benéficos das infestações por larvas em feridas durante a batalha de St. Quentin (BAZALIŃSKI et al., 2019; MUMCUOGLU et al., 1999; RAFTER, 2013). Em 1829, o cirurgião chefe do exército de Napoleão Bonaparte, Barão Dominic Larrey, observou que a infestação de larvas da mosca varejeira (*Dermatobia hominis*) removia apenas o tecido necrótico das feridas e, dessa forma, impediam o desenvolvimento de infecções e aceleravam o processo de cicatrização (CAZANDER et al., 2013; MUMCUOGLU et al., 1999; RAFTER, 2013).

A primeira aplicação de larvas oficialmente documentada foi realizada por John Forney Zacharias (1837-1901), um cirurgião de Maryland durante a guerra civil americana (1861-1865):

Durante meu serviço no hospital em Danville, Virgínia, usei larvas pela primeira vez para remover o tecido necrótico de uma gangrena hospitalar e com satisfação eminente, vi, em um único dia, as larvas limparem uma ferida muito melhor do que qualquer agente que tivéssemos sob nosso comando. Eu usei as larvas depois em várias feridas. Tenho certeza de que salvei muitas vidas com seu uso, salvando soldados da septicemia e proporcionando-lhes rápidas recuperações (CHERNIN, 1986, p. 1143).

Em 1931, o cirurgião ortopédico William S. Baer aplicou sistematicamente as larvas em doentes com fraturas expostas acometidos com osteomielite (FRANCO, 2010; RAPOSIO et al., 2017). Baer desenvolveu, com sucesso, um método para produzir larvas esterilizadas que não disseminassem infecções. A terapia foi amplamente utilizada em toda a Europa e América do Norte, até depois da Segunda Guerra Mundial, quando então houve a descoberta da penicilina, em 1940, por Alexander Fleming (BAZALIŃSKI et al., 2019), além do desenvolvimento de novas técnicas cirúrgicas (CAZANDER et al., 2013; RAPOSIO et al., 2017).

Com isso, a TL praticamente caiu em desuso, houve uma diminuição do interesse do meio acadêmico em relação às larvas enquanto opção terapêutica (TOMBULTURK; KANIGUR-SULTUYBEK, 2021), sendo seu uso reservado somente às feridas de difícil cicatrização – aquelas em que a cura não foi possível por meio das terapias convencionais e do uso de antibióticos (FRANCO, 2010).

### 3.1.1 O Renascimento da Terapia Larval

Em virtude do fenômeno da multirresistência aos antibióticos, a terapia larval volta ao uso, sendo reintroduzida, primeiramente, nos Estados Unidos e, em seguida, em Israel, Reino Unido, Alemanha, Suécia, Suíça, Ucrânia e Tailândia (BAZALIŃSKI et al., 2019; FRANCO, 2010).

Em 2004, a *Food and Drug Administration* (FDA), nos EUA, aprovou o uso das larvas de *Lucilia sericata* (família *Calliphoridae*) na terapia larval como um dispositivo médico no tratamento de feridas crônicas, sendo submetidas aos rigorosos parâmetros especificados para o setor farmacêutico, incluindo os certificados de qualidade (BAZALIŃSKI et al., 2019).

Atualmente, a terapia de desbridamento larval vem ganhando muito interesse devido a sua eficácia no tratamento de feridas crônicas e/ou infectadas e na eliminação de microrganismos resistentes às drogas em uso (VALACHOVÁ et al., 2013). Essa terapêutica tem como finalidade auxiliar no processo de cicatrização de feridas, a partir da remoção de secreção e do tecido desvitalizado. Além disso, as larvas da mosca varejeira *L. sericata*, aparentemente, inibem o desenvolvimento de bactérias multirresistentes como *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) e *Pseudomonas aeruginosa* presentes no leito de feridas crônicas de difícil cicatrização, através de substâncias antimicrobianas secretadas por elas (MALEKIAN et al., 2019; MASIERO et al., 2017; VALACHOVÁ et al., 2013).

Na América do Sul, o uso da terapia larval tem se restringido a nível de pesquisa. No Brasil, a aplicação da técnica para o tratamento de feridas em humanos encontra-se ainda em fase experimental, no entanto a extensão do uso é uma realidade cada vez mais próxima (PINHEIRO et al., 2015).

Em 2014, foi registrado no Brasil, no Hospital Universitário Onofre Lopes (HUOL), em Natal – RN, o primeiro trabalho de implementação da terapia larval com aplicação em humanos, sendo pioneiro na utilização de larvas da espécie *Chrysomya megacephala* (família *Calliphoridae*), no tratamento de cinco pacientes com lesão diabética em membros inferiores. A pesquisa demonstrou como resultados positivos a granulação exuberante do tecido; a liberação de enzimas com propriedades antimicrobianas; rapidez no processo de resolução da necrose e reparo tecidual;

seletividade; fácil manuseio tanto do paciente hospitalizado como daqueles tratados em domicílio e ambulatorialmente (PINHEIRO et al., 2015).

Há outros relatos de trabalhos focados em modelos animais e diferentes métodos de criação de larvas. Há exemplo de duas espécies de moscas varejeiras da família *Calliphoridae*, além da *C. megacephala*, a *Cochliomyia macellaria*, com ampla distribuição em território nacional brasileiro e de fácil manutenção em laboratório. Ambas as varejeiras são reconhecidamente seguras para aplicação da terapia de desbridamento larval, representando uma alternativa viável para o tratamento de feridas de qualquer etiologia, incluindo aquelas complexas ou infectadas (MASIERO et al., 2017).

## 3.2 Aspectos Biológicos das Larvas

### 3.2.1 Ordem Diptera

A ordem Diptera, do grego *di* = duas + *pteron* = asas, está inserida no filo Artrópoda, no qual pertencem mais de 80% de todas as espécies de animais invertebrados. Dentre os dípteros, encontram-se as moscas, mosquitos, pernilongos, borrachudos e mutucas (PINHEIRO, 2014). Vários gêneros são de importância médica por serem produtores de miíases, entre eles os gêneros *Cochliomyia*, *Lucilia*, *Chrysomya* e *Calliphora* (MASIERO, 2019).

Os dípteros possuem apenas o primeiro par de asas funcionantes, as asas posteriores apresentam-se modificadas em forma de halteres e funcionam apenas como órgão de equilíbrio, estabilizadores de voo (FRANCESCONI; LUPI, 2012).

Miíase, do grego *myia* = mosca + *iasys* = moléstia, é definida como a infestação por larvas histiófagas de dípteros (moscas) em organismo de hospedeiros vertebrados, que se instalam em tecidos vitalizados (biontófagas) ou necróticos (necrobiontófagas), usando-os como fonte nutricional para seu desenvolvimento e reserva energética para a fase de pupa (FRANCO, 2010; TEIXEIRA, 2013).

Atualmente, a classificação mais comumente utilizada classifica as miíases de acordo com os aspectos biológicos evolutivos das moscas que causam essas parasitoses. As miíases são classificadas em primária ou obrigatória, secundária ou facultativa, e pseudomiíase ou miíase acidental (FRANCO, 2010; MARTINS, 2018;

TEIXEIRA, 2013).

As miíases primárias ou obrigatórias são causadas por larvas biontófagas, ou seja, aquelas que se alimentam exclusivamente de tecidos vivos de animais, sendo que a única forma de sobreviverem é invadindo um hospedeiro através das feridas (MARTINS, 2018).

As miíases secundárias ou facultativas são causadas por larvas necrobiontófagas, aquelas que no geral depositam seus ovos e se desenvolvem na matéria orgânica em decomposição, tais como carcaças ou fezes. Eventualmente podem promover sua postura em ferida aberta de um hospedeiro vivo se alimentando de tecido necrosado (MARTINS, 2018; TEIXEIRA, 2013).

A pseudomiíase ou miíase acidental é caracterizada por larvas de dípteros que não têm preferências por desenvolvimento em um hospedeiro, elas são acidentalmente depositadas em cavidades ou deglutidas através de alimentos e passam pelo tubo digestivo sem se desenvolverem, mas ainda assim, podem causar distúrbios relacionados a obstrução, cursando com danos à mucosa intestinal como hemorragias ou simplesmente distúrbios gastrointestinais (TEIXEIRA, 2013).

### 3.2.2 Seleção das Moscas para a Terapia Larval

A maioria das moscas que facilitam a miíase pertencem a uma das três principais famílias: *Oestridae*, *Sarcophagidae* ou *Calliphoridae* (TEIXEIRA, 2013). Nem todas as espécies de moscas são seguras e eficazes como larvas medicinais, apenas uma minoria das cerca de 80 mil espécies possui propriedades que possibilitam o uso medicinal. Uma característica importante na seleção das larvas é a escolha de larvas necrobiontófagas, aquelas que causam apenas miíase secundária, ou seja, quando presentes em hospedeiros vivos se alimentam apenas do tecido necrótico (MARCONDES, 2006).

A seleção de uma espécie de mosca adequada para uso na TL é de suma importância, uma vez que determina a segurança e o sucesso do tratamento. Assim, a escolha deve levar em consideração características como: distribuição geográfica, fácil manutenção em laboratório, rápido desenvolvimento, realização da postura de ovos (e não larvas) e baixa especificidade na escolha de substrato de oviposição (SHERMAN, 2014; SILVA, 2020).

As larvas de mosca utilizadas em terapia larval pertencem à família *Calliphoridae*, composta por dípteros de coloração metálica azulada ou esverdeada, com reflexos metálicos, de tamanho geralmente mediano; podem causar miíases obrigatórias e facultativas. No Brasil são descritas cerca de quarenta espécies (PINHEIRO et al., 2015). A espécie mais utilizada na TL é *L. sericata* (SHERMAN, 2014).

### 3.2.3 Família *Calliphoridae*

A família *Calliphoridae*, conhecida popularmente como “moscas varejeiras”, é uma das famílias mais importantes no que diz respeito aos dípteros que causam miíases. Assim como todos os dípteros, seu desenvolvimento é do tipo holometábolo (se desenvolvem com metamorfose completa), ocorrendo em três fases até chegar à forma adulta, sendo elas: fase de ovo, estágio larval e estágio pupal (SILVA, 2020). Denomina-se larva, o estágio imaturo de todos os insetos holometábolos, compreendido entre a emergência da larva do ovo e a pupa (FRANCO, 2010).

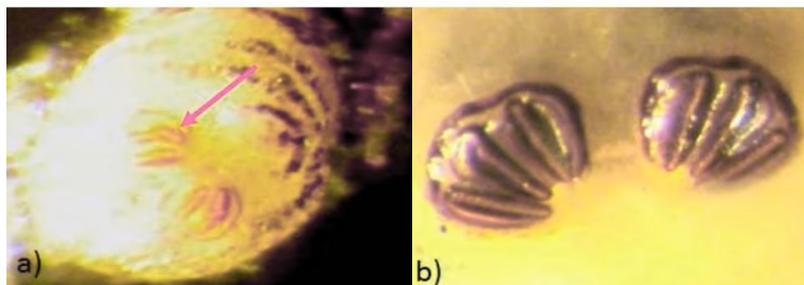
As larvas que deixam os ovos logo após a eclosão correspondem a larvas de primeiro instar (L1), as quais nos primeiros instantes de vida são denominadas neolarvas. Estas se alimentam, aumentando significativamente de tamanho, atingindo em seguida o segundo instar (L2) e, posteriormente, o terceiro e último instar (L3). Ao atingir determinado tamanho no terceiro instar (L3), as larvas param de se alimentar e buscam um local adequado, geralmente seco, para seguir sua metamorfose, dando início à fase pupal (SILVA, 2020).

Em geral as larvas da família *Calliphoridae* apresentam morfologia vermiforme, apresentam corpo cilíndrico, região anterior mais afilada que a posterior, com três tubérculos na superfície dorsal e ventral que são restritos à porção terminal do último segmento abdominal, e um par de espiráculos anteriores e posteriores (SILVA, 2020).

Na identificação dos diferentes estádios larvais (L1, L2 e L3) são observadas as aberturas nos espiráculos respiratórios, presentes na extremidade posterior da larva. Após a eclosão, a larva de primeiro estágio apresenta apenas um espiráculo respiratório que é dificilmente observado pela ausência de pigmentação. Após aproximadamente 24 horas, esta larva (L1) sofre muda para larva de segundo estágio (L2) apresentando dois espiráculos respiratórios, e que em aproximadamente mais 24

horas, sofre uma segunda muda alcançando o terceiro instar (L3) apresentando três espiráculos respiratórios (Figura 1) (MARTINS, 2018).

**Figura 1** – Estádios larvais L2 e L3.



**Legenda:** a) Larva de segundo estágio, seta vermelha indicando a presença de duas fendas dos espiráculos respiratórios; b) Larva de terceiro estágio, podendo-se notar a presença de três fendas dos espiráculos respiratórios.

**Fonte:** Martins (2018).

O estágio pupal é o estágio intermediário entre a fase de larva e a fase adulta. Este estágio é caracterizado pela formação do pupário, que corresponde ao endurecimento da cutícula do 3º instar larval. A fase de pupa é um estágio quiescente do ciclo do inseto, em que este não se alimenta e é imóvel (BARCELOS et al., 2014; SILVA, 2020).

Nesse momento, a pupa, em seu interior, sofre importantes transformações fisiológicas e morfológicas que levarão, nos próximos dias, à uma emergência do inseto adulto completamente formado (BARCELOS et al., 2014; SILVA, 2020). O pupário de *C. megacephala* possui coloração marrom-avermelhada e é bastante semelhante ao de outras espécies de *Calliphoridae* (BARCELOS et al., 2014).

#### 3.2.4 Gênero *Lucilia*

A mosca da espécie *L. sericata* é de tamanho médio (de seis a nove milímetros) coloração geralmente verde amarelada indo até o azul ou verde-cuprino, com reflexos metálicos. A cabeça escurecida e os palpos amarelos, ligeiramente avermelhados. A larva madura chega a atingir cerca de quatorze milímetros de comprimento; coloração creme a rósea; os segmentos 2-8 com fileiras completas de espinhos (TEIXEIRA, 2013).

Com relação ao ciclo biológico, a primeira oviposição da *L. sericata* ocorre entre

o terceiro e oitavo dia após a emergência dos adultos, e as fêmeas estão aptas a produzir entre dois a três mil ovos, distribuídos entre nove a dez posturas. As larvas vivem em substrato composto por carcaças de vertebrados, fezes e outros produtos de origem animal em decomposição (FRANCESCONI; LUPI, 2012; TEIXEIRA, 2013). É uma espécie de distribuição quase cosmopolita, ocorrendo desde o sudoeste do Canadá até a Argentina (TEIXEIRA, 2013), sendo mais adaptada às regiões temperadas (SILVA, 2020).

Apesar de estar presente no Brasil, não é encontrada em todos os estados, e por isso não é a mais indicada para essa prática no país. Entretanto, a literatura relata a fácil criação dessa espécie em laboratório (SILVA, 2020).

### 3.2.5 Gênero *Chrysomya*

O gênero *Chrysomya*, por outro lado, encontra-se presente em praticamente todo o território brasileiro (datado no Brasil por volta de 1975). É altamente adaptado às várias condições climáticas e ecológicas do país, sendo por isso o mais indicado para essa prática no Brasil (SILVA, 2020).

A espécie *C. megacephala* tem sua distribuição por quase todo o mundo, predominância em regiões do Oriente (SILVA, 2020). Essa espécie causa miíase ulcerativa de caráter facultativo, tem preferência pelas bordas dos ferimentos uma vez que estas já se encontram necrosadas. Tem como fonte alimentar substratos orgânicos em processo de decomposição como carnes, lixo e fezes. Casos de miíases em humanos são relatados na literatura, tanto por causar miíase ulcerativa, assim como otomiíase e tem importância na medicina forense (TEIXEIRA, 2013).

As larvas de *C. megacephala* são acéfalas (cabeça atrofiada com peças bucais transformadas em ganchos internos) e passam por três instares de desenvolvimento, L1, L2 e L3, diferenciadas entre si pelo tamanho e pela quantidade de fendas respiratórias no espiráculo (PINHEIRO et al., 2015). Após a eclosão dos ovos iniciam-se os estádios larvais, os quais se diferenciam principalmente por características morfológicas dos espiráculos anteriores e posteriores e pelo arranjo, esclerotização e pigmentação do esqueleto cefalofaríngeo. Os tamanhos larvais relacionados a cada estágio de desenvolvimento da espécie *C. megacephala* podem ser variáveis, assim como o tempo de duração das fases do ciclo de vida, uma vez

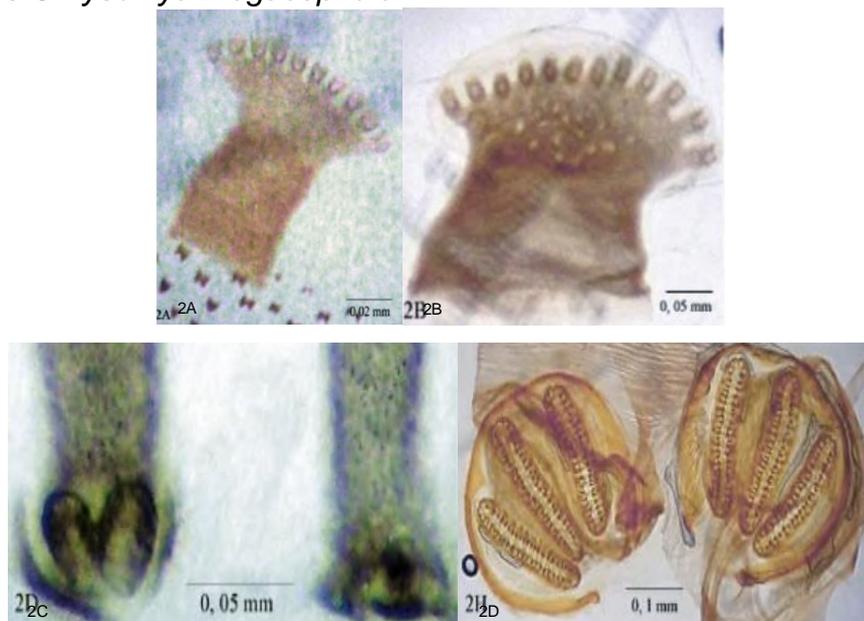
que fatores como: substrato utilizado, temperatura de exposição e localização geográfica, interferem em tais características (BARCELOS et al., 2014).

As larvas de primeiro instar possuem o esqueleto cefalofaríngeo pouco pigmentado; mandíbula menor, menos esclerotizada e pigmentada que a maxila; apresenta um par de espiráculos posteriores, que está localizado no último segmento abdominal, e apenas uma abertura espiracular (BARCELOS et al., 2014).

As larvas de primeiro instar rastejam sobre o tecido necrótico e/ou o exsudato das feridas, e por meio de suas peças bucais maceram tais substratos (RAPOSIO et al., 2017). O estágio seguinte corresponde ao período de transição para o início do 2º instar larval. Esse período de muda é caracterizado pela presença simultânea do par de espiráculos posteriores de 1º e 2º instar (BARCELOS et al., 2014).

Finalizada a muda, inicia-se o segundo instar larval, nessa fase as larvas apresentam espiráculos posteriores com duas aberturas espiraculares, espiráculos anteriores, mandíbula fusionada à maxila, fortemente esclerotizada e pigmentada (Figura 2A). As larvas de terceiro instar apresentam o esqueleto cefalofaríngeo completamente formado e um par de espiráculos anteriores e espiráculos posteriores (Figura 2D) (BARCELOS et al., 2014).

**Figura 2** – Espiráculos anteriores e posteriores característicos de cada estágio larval de *Chrysomya megacephala*.

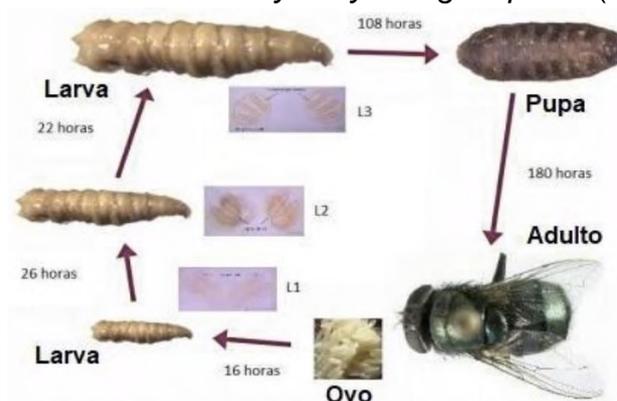


**Legenda:** 2A) Espiráculo anterior de larva em 2º instar; 2B) Espiráculo anterior de larva em 3º instar; 2C) Espiráculo posterior de larva em 1º instar; 2D) Espiráculo posterior de larva em 3º instar.

**Fonte:** Barcelos et al. (2014).

Como diferencial de outras espécies de moscas, as larvas da espécie *C. megacephala* apresentam espiráculos respiratórios posteriores na divisão anal, com peritrema incompleto, e placas peritremais dos espiráculos posteriores muito aproximadas (PINHEIRO et al., 2015; SILVA, 2020).

**Figura 3** – Ciclo de vida da mosca *Chrysomya megacephala* (Diptera, Calliphoridae).



**Legenda:** A figura ilustra o tempo médio de desenvolvimento de cada fase a 25°C. Nos instares larvais está representado o espiráculo larval.

**Fonte:** Adaptado de “The Cleveland Natural History Museum” (2011).

Já os adultos de *C. megacephala* (Figura 4), têm como características a coloração escura com reflexos metálicos; base do rádio, na face ventral, nua; arista plumosa na extremidade distal; asas hialinas; mesonoto sem bandas longitudinais distintas; tergitos abdominais, na margem posterior, com faixas pretas transversais; espiráculo prototorácico e calíptera inferior de coloração marrom-escuro, com antena e genas amareladas. O macho da *C. megacephala* apresenta olhos definidos por grandes facetas na área superior e facetas pequenas na região inferior (PINHEIRO et al., 2015).

**Figura 4** – Adulto macho de *Chrysomya megacephala*.



Fonte: Pinheiro (2014).

### 3.3 Protocolo de Manejo de Moscas e Larvas para Bioterapia

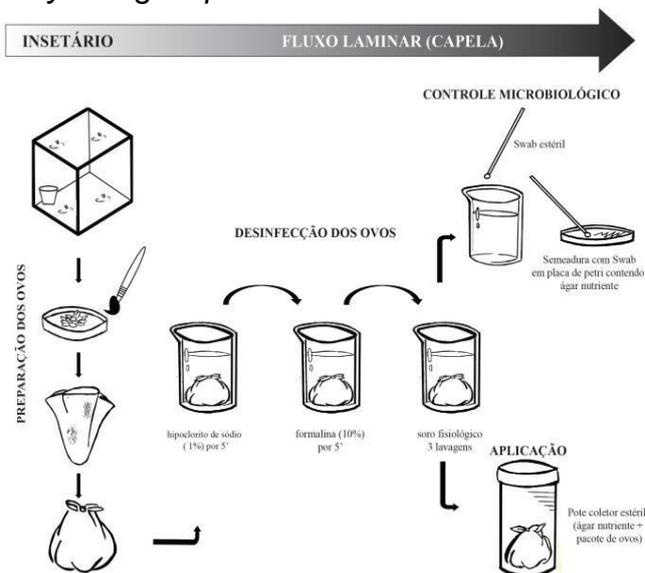
Para descrição da obtenção das larvas foi escolhido o protocolo básico de manutenção, desinfecção, transporte e aplicação de larvas de *C. megacephala* por ser pioneiro no Brasil (GAMA et al., 2021).

Este protocolo operacional é composto por quatro etapas: (1) Manutenção da colônia de moscas adultas; (2) Preparo e desinfecção dos ovos; (3) Acondicionamento das larvas e envio para aplicação em hospitais; e (4) Aplicação e retirada das larvas das feridas crônicas (GAMA et al., 2021).

Para início e estabelecimento da colônia de *C. megacephala*, os progenitores são coletados em campo utilizando armadilhas suspensas 1,5 m acima do solo, contendo iscas de fígado de frango (FERREIRA, 1975). Devido à grande diversidade de moscas coletadas na armadilha, os adultos fêmeas e machos de *C. megacephala* são identificados em microscópio estereoscópico e em seguida colocados em gaiolas para formação das colônias. São alimentados diariamente com uma dieta artificial composta de leite em pó integral, levedo de cerveja e farinha láctea, com adição de água destilada, sendo então disponibilizados para consumo em placa de Petri. A fim de estimular a postura dos ovos, a cada oito dias, é adicionado à dieta rúmen bovino (bucha) moído e sem sal, como substrato de oviposição e mantidos na colônia por vinte e quatro horas. Os ovos são retirados do meio de oviposição, transferidos para uma placa de Petri, em seguida levados para capela de fluxo laminar (Figura 5), embrulhados em forma de “pacote” com objetivo de minimizar sua manipulação e

aumentar a viabilidade durante o processo de desinfecção (GAMA et al., 2021).

**Figura 5** – Modelo esquemático do processo de coleta e desinfecção dos ovos de *Chrysomya megacephala* colonizados.



Fonte: Gama et al. (2021).

Posteriormente, o “pacote” passa por sucessivas lavagens com diversas substâncias como hipoclorito de sódio à 1% com o objetivo de dissociar a camada mucilaginosa que envolve os ovos, permitindo uma maior ação da formalina, substância desinfetante. Por último, os ovos envoltos na gaze são lavados três vezes com soro fisiológico, a fim de remover possíveis resíduos das substâncias químicas anteriormente utilizadas. Durante essa fase é realizado o controle microbiológico do processo de desinfecção e a observação de um possível crescimento bacteriano. Caso não ocorra crescimento de microrganismos na placa de Petri, as larvas recém-emergidas estão aptas para serem encaminhadas para aplicação em pacientes (GAMA et al., 2021).

Após o semeio da placa de Petri com meio ágar, a fim de obter o controle microbiológico da desinfecção, as larvas e ovos remanescentes no “pacote” da gaze são acondicionados em potes coletores estéreis com meio ágar nutritivo para emergência e manutenção das larvas de primeiro instar recém-emergidas. Os potes são mantidos em temperatura ambiente por aproximadamente 36 horas para mudarem de estágio. Assim, as larvas de segundo instar são encaminhadas nos potes coletores e acondicionadas em caixa térmica de isopor para realização da TL (GAMA

et al., 2021).

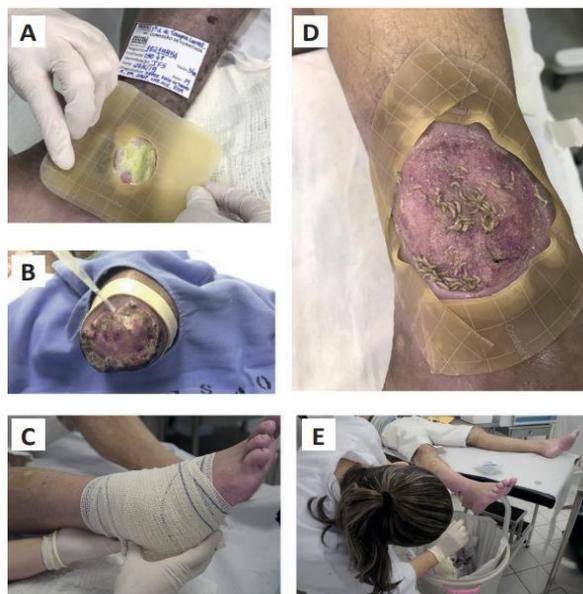
A aplicação e retirada das larvas de *C. megacephala* em lesões é realizada pela equipe de enfermagem, responsável por selecionar os pacientes com feridas crônicas de difícil cicatrização como lesão por pressão, úlceras venosas e pés diabéticos (GAMA et al., 2021).

Após o consentimento do paciente, a ferida é limpa, mensurada e suas margens são emolduradas por hidrocolóides (Figura 6A) para evitar a fuga das larvas (MARCONDES, 2006), em seguida as larvas são aplicadas na ferida com auxílio de uma pipeta e soro fisiológico morno (Figura 6B) (GAMA et al., 2021).

A quantidade de larvas varia de acordo com o tamanho da ferida e percentual de tecido necrosado, a recomendação de alguns autores é o uso de cinco a oito larvas por cm<sup>2</sup> de tecido necrosado. O “pacote” de gaze com larvas pode ser aplicado diretamente no leito da ferida, tendo como vantagem a mínima manipulação das larvas, evitando a dispersão das mesmas. Após a aplicação é realizado o curativo utilizando gazes de algodão e atadura de crepom, de forma a permitir a entrada de ar para as larvas (Figura 6C) (GAMA et al., 2021) e facilitar a drenagem de líquidos acumulados (tecido necrótico liquefeito e exsudatos) (SHERMAN, 2014).

Estudos prévios indicam que a permanência das larvas no leito da ferida para realização do desbridamento biológico deve ser de 48 a 96 horas (GAMA et al., 2021; MARCONDES, 2006). Entretanto o protocolo acima descrito sugere períodos entre 24h e 48h (GAMA et al., 2021) por conta da alta voracidade das larvas no consumo dos tecidos necróticos (TOMBULTURK; KANIGUR-SULTUYBEK, 2021) com consequente produção de exsudato, podendo exigir a troca do curativo (PINHEIRO et al., 2015). A retirada das larvas é feita pela equipe de enfermagem com auxílio de pinça cirúrgica ou jato de soro fisiológico, com posterior troca de todo o curativo (Figura 6D) caso não haja mais a necessidade da aplicação da bioterapia. As larvas devem ser sacrificadas em álcool 70% e descartadas em lixo hospitalar (Figura 6E) (GAMA et al., 2021).

**Figura 6** – Etapas de aplicação das larvas de *Chrysomya megacephala* para uso na terapia larval.



**Legenda:** A) Moldura da ferida com hidrocolóide; B) Aplicação das larvas (L2) com pipeta de Pasteur; C) Realização de curativo; D) Retirada do curativo e das larvas; E) Descarte das larvas.

**Fonte:** Gama et al. (2021).

### 3.4 Mecanismos de Ação das Larvas na Cicatrização de Feridas

A cicatrização de feridas é um processo complexo de reparo que compreende três fases: inflamação, proliferação e remodelação (MASIERO et al., 2017). A etapa inflamatória, que compreende os fenômenos da hemostasia e da inflamação, tem uma duração entre 48 e 72 horas. Após o trauma local, a primeira ação do organismo é promover a hemostasia com a chegada das plaquetas e dos fatores de coagulação. Nesse ambiente, após vasoconstrição intensa dos capilares e das arteríolas, observase o aumento da permeabilidade vascular (KUMAR et al., 2016).

Sobre o subendotélio capilar lesado, forma-se um tampão de eritrócitos e plaquetas, ocorrendo simultaneamente a liberação de citocinas e fatores de crescimento (PRITCHARD; NIGAM, 2013). Os neutrófilos são as primeiras células a chegarem à ferida, estes liberam tanto os fatores de crescimento derivados das plaquetas (PDGF), como o fator de crescimento tecidual beta (TGF $\beta$ ). Esses quimiotáticos atraem, respectivamente, fibroblastos e macrófagos para as etapas de proliferação e remodelamento (KUMAR et al., 2016).

Os macrófagos ativados são considerados as células mais importantes nessa

etapa da cicatrização, participando nos processos de desbridamento celular, na síntese da matriz extracelular e na angiogênese. Os fibroblastos, por sua vez, além de produzirem colágeno, mudam seu fenótipo, adquirindo características morfológicas e bioquímicas de células musculares lisas, sendo denominados de miofibroblastos. Os miofibroblastos exercem função na reorganização da matriz extracelular e promovem a contração da ferida através da sua atividade contrátil (KUMAR et al., 2016). Existem quatro condições importantes para a cicatrização de uma ferida, sendo elas: a interrupção do trauma em curso, o controle do processo infeccioso, a garantia de uma vascularização e desbridamento adequados (TOMBULTURK; KANIGURSULTUYBEK, 2021).

Todos esses fatores levam a formação do tecido de granulação, composto de novos vasos sanguíneos, tecido conjuntivo, fibroblastos e células inflamatórias que protegem a ferida de mais danos, permitindo a recuperação do tecido lesionado (PINHEIRO et al., 2015).

As contribuições descritas da TL estão no mecanismo de desbridamento biológico executado pelas larvas na ferida. O desbridamento (remoção seletiva do tecido desvitalizado) é parte da terapia tópica, em que o papel da larva consiste em eliminar microrganismos e remanescentes metabólicos nocivos do tecido necrosado que retardam o processo de cicatrização (FRANCO, 2010).

O tecido necrótico é um fator negativo para a efetivação da cicatrização, assim, a remoção de tecido desvitalizado cria também condições para a formação do tecido de granulação e migração das células epiteliais (BAZALIŃSKI et al., 2019; PRITCHARD; NIGAM, 2013).

As larvas auxiliam na cicatrização tecidual através da ação conjunta de fatores mecânicos com seu movimento sob a lesão e o desbridamento através do aparelho bucal o qual rompe e drena o tecido necrótico da ferida (BAZALIŃSKI et al., 2019; TANTAWI et al., 2007; TOMBULTURK; KANIGUR-SULTUYBEK, 2021).

Nesse processo, as larvas secretam diversas enzimas proteolíticas capazes de quebrar o tecido necrótico, isto é, atuam no desbridamento, e posteriormente através da ingestão desse material liquefeito pelas enzimas, o tecido morto é então removido (PINHEIRO et al., 2015; SILVA, 2020).

Além disso, esse exsudato produzido é capaz de eliminar as bactérias da ferida

(BAZALIŃSKI et al., 2019; MASIERO et al., 2017; PINHEIRO et al., 2015), juntamente com auxílio de outras substâncias liberadas pela larva as quais inibem o crescimento bacteriano (SILVA, 2020). As larvas também secretam várias substâncias que favorecem o processo de cicatrização e auxiliam na formação do tecido de granulação (MARCONDES, 2006; MOYA-LÓPEZ et al., 2020; SHERMAN, 2014).

#### 3.4.1 Ação Antimicrobiana

Uma das principais propriedades curativas da terapia larval refere-se a sua capacidade de reduzir as bactérias presentes na ferida através de diversos mecanismos como a digestão e destruição bacteriana no intestino larval (MUMCUOGLU et al., 1999), excreção e secreção de compostos com atividade antibacteriana (BEXFIELD et al., 2004), e a destruição de biofilmes (CAZANDER et al., 2013).

Desde a introdução da terapia com larvas na prática clínica por Baer, muitos pesquisadores estimulados pelo sucesso da terapêutica têm se concentrado na determinação dos agentes antimicrobianos excretados e secretados por larvas na ferida infectada. A respeito dos esforços, somente alguns compostos ativos com estruturas químicas expressamente determinadas foram identificados em excreções/secreções de larvas (ES) (TOMBULTURK; KANIGUR-SULTUYBEK, 2021).

As larvas se alimentam com ajuda de secreção extracorpórea de um amplo espectro de enzimas proteolíticas que decompõem os tecidos mortos e infectados das feridas do hospedeiro pela atividade de degradação de proteínas da matriz extracelular (MEC) (TOMBULTURK; KANIGUR-SULTUYBEK, 2021). Essas substâncias incluem o peptídeo antimicrobiano de larvas (MAMP) (BAZALIŃSKI et al., 2019; ZHANG et al., 2013); seraticina; serinoproteases subclasses tipo tripsina e quimotripsina (NIGAM et al., 2006; TOMBULTURK; KANIGUR-SULTUYBEK, 2021); DNAses (CAZANDER et al., 2013; VALACHOVÁ et al., 2013); as defensinas de insetos, recentemente descobertas (lucifensinas) (BAZALIŃSKI et al., 2019); os compostos orgânicos de baixo peso molecular como ácido p-hidroxibenzóico, ácido phidroxifenilacético e octahidro-dipirrolo (HUBERMAN et al., 2007).

Estudos de Huberman et al. (2007) mostram que essas três moléculas

apresentaram atividade antibacteriana quando testadas contra *P. aeruginosa* e o efeito foi ainda mais pronunciado quando esses compostos foram testados em combinação provocando a lise dessa bactéria.

Mesmo apresentando-se como uma espécie de difícil eliminação das úlceras de pé diabético, a *P. aeruginosa* mostrou-se suscetível à efeitos da atividade de várias substâncias identificadas na hemolinfa das larvas da espécie *L. sericata*, como a lucifensina, MAMP (BAZALIŃSKI et al., 2019), seraticina, quimotripsina e DNAses (CAZANDER et al., 2013; VALACHOVÁ et al., 2013). O mesmo se aplica para a espécie *S. aureus* e MRSA (BEXFIELD et al., 2004).

Os insetos respondem à injúria bacteriana nas feridas através da rápida produção de peptídeos antimicrobianos (AMPs), que possuem um amplo espectro de atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Os compostos antimicrobianos produzidos pela larva permitem sua sobrevivência no ambiente infeccioso da ferida. Os AMPs são sintetizados no corpo gorduroso, pelas células epiteliais e certas células da hemolinfa, e espalham-se por todo o corpo das larvas através da hemolinfa para combater o processo infeccioso do local e dessa forma contribuem com o processo de cicatrização das feridas (BEXFIELD et al., 2004).

As larvas também secretam amônia, carbonato de cálcio, carbonato de amônio (BAZALIŃSKI et al., 2019), que alteram o pH da ferida fazendo com que as feridas se tornem mais alcalinas (MARCONDES, 2006; SHERMAN, 2014; TOMBULTURK; KANIGUR-SULTUYBEK, 2021), fator que se acredita ser um inibidor do crescimento bacteriano (FRANCESCONI; LUPI, 2012). O ambiente da ferida mais alcalino provoca uma deficiência local de oxigênio promovida pela flora bacteriana e isso leva à inibição do crescimento desses microrganismos (BAZALIŃSKI et al., 2019).

A ureia, alantoína e glicosidases, também produtos da ES, desestabilizam a parede bacteriana, um importante fator de virulência desses patógenos (SILVA, 2020). Outras substâncias podem atuar na degradação do biofilme bacteriano, facilitando a eliminação desses microrganismos nas feridas (BAZALIŃSKI et al., 2019).

As lucifensinas são os principais peptídeos antimicrobianos constituintes de ES da mosca varejeira *L. sericata* (ČEŘOVSKÝ et al., 2010) e *L. cuprina*. O mecanismo de ação desse peptídeo consiste em destruir as bactérias através da lise de sua membrana citoplasmática (VALACHOVÁ et al., 2013). Além do papel bactericida sob

a ferida infectada, a lucifensina e outros compostos antimicrobianos das larvas apresentam funções imunomoduladoras que podem estar envolvidas na eliminação da infecção e no suporte à cicatrização de feridas, incluindo a capacidade de influenciar a resposta imune inata e adaptativa do hospedeiro (CAZANDER et al., 2013).

A lucifensina foi originalmente isolada do intestino e posteriormente detectada no corpo gorduroso, nas glândulas salivares e na hemolinfa das larvas de *L. sericata*. A expressão desse fator antimicrobiano é induzida após a ingestão oral de patógenos regularmente encontrados em feridas infectadas, sendo fortemente estimulada na presença de *S. aureus* e *P. aeruginosa* (VALACHOVÁ et al., 2013). Há evidências na literatura do uso bem-sucedido da terapia larval para feridas traumáticas que não cicatrizam, como úlceras de pé diabético (TANTAWI et al., 2007).

Um ensaio clínico randomizado realizado por Malekian et al. (2019) avaliou os efeitos antimicrobianos de larvas estéreis de *L. sericata* em *S. aureus* e *P. aeruginosa* em úlceras de pé diabético. Os resultados mostraram que o número de casos infectados com *S. aureus* no grupo de tratamento foi significativamente reduzido após 48 horas em comparação com o grupo controle ( $p = 0,047$ ). O número de casos infectados com *P. aeruginosa* foi significativamente reduzido após 96 horas ( $p = 0,002$ ).

O MAMP pertence à família de peptídeos antimicrobianos, e este, segundo um ensaio *in vitro* e *in vivo* realizado por Zhang et al. (2013), demonstrou atividade inibitória contra ambas as cepas de *S. aureus* padrão e MRSA. O MAMP foi purificado após extração do corpo de larvas e observou-se que tal peptídeo exerceu efeito bactericida, interagindo com a membrana celular bacteriana e rompendo a estrutura da superfície celular.

#### 3.4.2 Destruição de Biofilmes

As larvas combatem também a forma mais resistente das bactérias, o biofilme, uma comunidade estruturada tridimensionalmente com uma ou mais espécies de células bacterianas, vivendo intimamente em uma matriz fechada, protetora e autoproduzida e aderente a uma superfície inerte ou viva (CAZANDER et al., 2013).

Os biofilmes bacterianos são cada vez mais reconhecidos por desempenhar

um papel crítico na cronicidade das feridas de difícil cicatrização. A atividade do antibiofilme é relevante porque o biofilme é altamente resistente à penetração dos antibióticos (BAZALIŃSKI et al., 2019) e à atividade do sistema imunológico humano.

Neste sentido, vários pesquisadores mostraram que as secreções larvais rompem o biofilme estabelecido, e adicionalmente, também previnem a formação de biofilmes em superfícies abióticas (aço inoxidável cirúrgico e titânio) e bióticas (CAZANDER et al., 2013).

Os produtos de ES de larvas de *L. sericata* mostraram conter uma desoxirribonuclease (DNAse) com dependência de magnésio, sódio e cálcio metálico, a qual degrada o DNA bacteriano extracelular (componente da arquitetura de biofilmes pré-formados) a partir de um isolado clínico de *P. aeruginosa*. A remoção do DNA bacteriano demonstra ser clinicamente importante, uma vez que sua permanência pode impedir a cicatrização da ferida. A DNAse da larva é, portanto, uma enzima com elevado potencial para auxiliar no desbridamento clínico da lesão, e assim promover a viabilidade do tecido, ao mesmo tempo em que libera a ferida para que possam agir as proteases secretadas pela larva (BROWN et al., 2012).

A quimotripsina e algumas moléculas ainda não caracterizadas, presentes em secreções larvais, apresentaram um efeito inibitório na formação de biofilme, interrompendo os mecanismos de formação dessa comunidade de bactérias (BAZALIŃSKI et al., 2019).

Embora os componentes antibacterianos das excreções de larvas sejam os principais responsáveis pelas ações na remoção do biofilme, parece que o rastejar e o deambular, ou seja, a ação mecânica larval sobre as feridas, também pode afetar consideravelmente as bactérias, principalmente anaeróbias, que podem formar biofilmes, que são menos resistentes à passagem pelo intestino larval ou que são geralmente menos suscetíveis à presença de substâncias antibióticas (JAKLIČ et al., 2008).

### 3.4.3 Estimulação do Crescimento Tecidual e Cicatrização de Feridas

A cicatrização de feridas é mais rápida com a TL do que com terapia clássica, isso porque a aplicação da TL induz a formação de uma nova camada de tecido saudável na ferida, através do movimento das larvas. Esse processo favorece a

neoangiogênese e estimula a produção de exsudato seroso, promovendo a ativação de macrófagos, secretando fatores de crescimento como o VEGF, fator de crescimento endotelial vascular A (VEGFA) e, assim, criando condições para uma cicatrização efetiva (MARCONDES, 2006; MOYA-LÓPEZ et al., 2020).

As serinoproteases são descritas como as principais enzimas digestivas presentes nas secreções larvais (TÉLLEZ et al., 2012). Uma serinoprotease semelhante à quimotripsina exibiu excelente capacidade de solubilização de coágulos e degradação dos componentes da matriz extracelular (MEC), tais como laminina, fibronectina e colágeno tipos I e III – o que os pesquisadores acreditam desempenhar um papel significativo na digestão da matriz da ferida e no desbridamento eficaz (NIGAM et al., 2006; VALACHOVÁ et al., 2013). Além disso, essas serinoproteases demonstraram promover a migração de fibroblastos (TÉLLEZ et al., 2012) e queratinócitos de forma significativa (CAZANDER et al., 2013).

A estimulação do processo de cicatrização ocorre mediante a secreção de substâncias como a alantoína (ação cicatrizante), ureia e carbonato de cálcio, os quais alcalinizam o meio (MUMCUOGLU et al., 1999).

Certos aminoácidos, como L-histidina, ácido 3-guanidinopropiônico e L-valinol, foram identificados em larvas, demonstrando *in vitro* que, tais componentes isolados, aumentam, em particular, a formação de células endoteliais humanas, favorecendo o processo de proliferação e remodelação da ferida (BAZALIŃSKI et al., 2019).

Outros pesquisadores também relataram atividade pró-angiogênica relacionadas às secreções larvais. Zhang et al. (2013) usaram extratos secos de larvas *L. sericata* em feridas de excisão dérmica. O resultado foi um aumento significativo na expressão de VEGF e VEGFA e aumento da expressão proteica do mRNA do VEGFA, após três dias de tratamento.

#### 3.4.4 Inibição do Processo Inflamatório

O sistema complemento faz parte da defesa imune inata, e a ativação do sistema complemento desempenha um papel importante na ativação da resposta inflamatória à lesão. Embora essa ativação seja necessária para o processo de cicatrização tecidual, a super ativação do complemento pode resultar em inflamação

prolongada e dessa forma causar lesão tecidual (CAZANDER et al., 2013).

Estudos clínicos mostram níveis aumentados de fatores ativadores de complemento em feridas crônicas. Considerando que a hiperativação do sistema complemento prejudica o processo de cicatrização de feridas, foi levantada a hipótese de que as secreções larvais interferiam nos componentes do complemento (CAZANDER et al., 2013).

Um estudo *in vitro* investigou o efeito das secreções larvais na ativação final do complemento em soros de doadores saudáveis e obtidos no pós-operatório. A principal descoberta desse estudo foi que todas as secreções testadas reduziram claramente a ativação do sistema complemento em soros saudáveis e imunoativados (CAZANDER et al., 2013).

O trabalho de Pečivová et al. (2008) estudou o efeito do extrato da glândula salivar de *L. sericata* sobre neutrófilos opsonizados, o extrato da glândula salivar reduziu significativamente a produção de peróxido e os níveis de secreção de mieloperoxidase nesses neutrófilos estimulados por zimogênio.

Ademais, Mumcuoglu et al. (2012) encontraram – dentre as diversas substâncias isoladas e que atuam na destruição das bactérias – duas substâncias secretadas pela bactéria comensal *Proteus mirabilis* do intestino da larva, que são o ácido fenilacético e fenilacetaldeído que, segundo o estudo, apresentam propriedades analgésica e anti-inflamatória.

### **3.5 Benefícios e Limitações da Terapia com Larvas de Moscas**

Dentre os diversos benefícios advindos do uso da TL, enquanto tratamento de feridas crônicas de difícil cicatrização, a literatura ressalta o desbridamento seletivo pela remoção apenas do tecido necrótico preservando o tecido saudável, a limpeza da lesão por meio de secreção de elementos antimicrobianos, os quais induzem a morte das bactérias e estimulam o processo de cicatrização (MUMCUOGLU et al., 2012).

As vantagens identificadas com o uso dessa técnica segundo Pinheiro (2014), foram a exuberância do tecido de granulação; a rapidez no processo de digestão dos *debris*; praticidade na execução da técnica, inclusive por permitir que o procedimento seja feito a nível ambulatorial, além de menor custo.

A larvoterapia pode ter potencial de melhorar sinergicamente a cicatrização de feridas através da estimulação da regeneração tecidual e, assim, resultar em internações hospitalares mais curtas (MARCONDES, 2006).

Há relatos de autores a respeito da diminuição da intensidade da dor, assim como do odor desagradável que acompanha os quadros de feridas crônicas necrosadas (PINHEIRO, 2014). As larvas contribuem na prevenção de septicemia e, muitas vezes, tornam possível a suspensão da amputação do membro ou amputações mais distais, possibilitando menores perdas teciduais (MUMCUOGLU et al., 2012).

Outra possível vantagem da TL citada na literatura é seu baixo custo comparado com outras terapias (PINHEIRO, 2014; SHERMAN, 2014; SILVA, 2020), podendo, dessa forma, constituir um recurso muito útil em regiões com nível socioeconômico precário (SILVA, 2020).

No Brasil, a terapia larval ainda é incipiente e uma das vantagens desse tratamento está relacionada à diminuição do uso de antibióticos e, conseqüentemente, do fenômeno da multirresistência bacteriana (MOYA-LÓPEZ et al., 2020; SILVA, 2020).

Dentre as limitações da terapia com larvas de moscas, foram descritas na literatura algumas queixas relatadas por pacientes como prurido, sangramentos leves e, em alguns casos, dor ou queimação relacionada à aplicação (MASIERO et al., 2017; MUMCUOGLU et al., 2012; PINHEIRO, 2014). Há evidências que a algia é mais comum em pacientes com úlceras isquêmicas (MOYA-LÓPEZ et al., 2020).

A dor pode ser resultado dos movimentos das larvas na superfície da ferida, especialmente porque elas usam seus dois ganchos na boca para puxar o corpo para frente e, possivelmente, devido a camada cuticular do corpo dessas larvas ser coberta por pelos, que são semelhantes a espinhos (PINHEIRO, 2014).

Além disso, os produtos de secreção/excreção das larvas, que incluem enzimas proteolíticas (MOYA-LÓPEZ et al., 2020), podem influenciar os nervos expostos e as terminações nervosas de uma ferida aberta (PINHEIRO, 2014).

O uso de espécies que se alimentam de tecidos vivos ou da introdução de um número inadequado de larvas na ferida são outros efeitos negativos que podem ser decorrentes do uso da TL (SHERMAN, 2014).

A adesão das pessoas à TL apresenta-se como um fator limitante para o

sucesso da bioterapia na cicatrização de feridas (FRANCO, 2010); a percepção dos pacientes acerca da ecologia destes insetos (uma vez que são observados em ambientes com odores e material em decomposição, além de serem vetores de doenças) acaba gerando repulsa em relação ao tratamento (SILVA, 2020).

As poucas contraindicações para o uso de terapia larval incluem o uso restrito em torno de feridas com órgãos ou vasos sanguíneos expostos, devido a possibilidade de lesão dos vasos pelas enzimas liberadas pelas larvas, associada a possibilidade de causar hemorragias acidentais no momento da remoção das mesmas (MASIERO, 2019; MOYA-LÓPEZ et al., 2020).

A TL também não é recomendada quando há comprometimento da irrigação sanguínea, no caso por exemplo de estase venosa, uma vez que o fluxo adequado de sangue é elemento essencial no processo de cicatrização. Nesse caso a TL atua na remoção do pus e no combate da infecção e desta forma não substitui as terapias recomendadas para este tipo de ferida (FRANCO, 2010). Também deve-se manter cuidado ao redor de fístulas e na proximidade a grandes vasos. Não deve ser realizada em lesões com necrose seca, visto que as larvas requerem um ambiente úmido para atuação (MARCONDES, 2006).

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Desde a antiguidade até os dias atuais, a larva, despretensiosamente, está sendo adotada pela medicina ocidental dominante do século XXI e tem uma base fixa na literatura e na história. A terapia larval pode ser usada para diversas feridas, mas atualmente é usada para feridas problemáticas, aquelas de difícil cicatrização e que geralmente respondem mal ao tratamento convencional como a antibioticoterapia e intervenções cirúrgicas.

Dentre os benefícios da TL destaca-se o biodesbridamento rápido da ferida, eliminação de infecção e odor, e possível prevenção de amputação. Pode reduzir a necessidade de hospitalização e duração da antibioticoterapia e, conseqüentemente, da resistência bacteriana presente no uso indiscriminado dessas drogas. É um método de excelente custo-efetivo, além de permitir a redução na frequência de internação, reduzindo a ocupação de leitos, contribuindo para redução dos gastos públicos em

saúde. Na literatura, diversos estudos com evidências científicas confirmam que tal tratamento pode efetivamente reduzir o biofilme e a carga bacteriana em uma ferida.

Conhecer os fatores que influenciam a “aceitação” ou “recusa” da TL por profissionais da área da saúde, dos pacientes e de seus familiares, certamente indicará as intervenções necessárias à divulgação e expansão da TL em nosso país. O aumento da conscientização pode facilitar seu uso em conjunto com tratamentos estabelecidos, esperançosamente no cenário de ensaios clínicos prospectivos, em médio e curto prazo contribuir para a aceitação da terapia larval no Brasil e demais países que ainda apresentam barreiras à tal modalidade terapêutica.

## REFERÊNCIAS

- BARCELOS, P. S. **Desenvolvimento pós-embrionário de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) em temperatura ambiente e o efeito de baixas temperaturas sobre a eclosão dos ovos.** Orientador: Carlos J. C. Pinto. 2014. 54. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação – Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/132785>. Acesso em: 15 de maio de 2022.
- BAZALIŃSKI, D. *et al.* Effectiveness of chronic wound debridement with the use of larvae of *Lucilia sericata*. **Journal of clinical medicine**, v. 8, n. 11, p. 1845, 2019.
- BEXFIELD, A. *et al.* Detection and partial characterisation of two antibacterial factors from the excretions/secretions of the medicinal maggot *Lucilia sericata* and their activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Microbes and infection**, v. 6, n. 14, p. 1297-1304, 2004.
- BRASIL, Prefeitura do Município de São Paulo. Secretaria Municipal de Saúde – Manual de Padronização de Curativos – Janeiro/2021.
- BROWN, A. *et al.* Blow fly *Lucilia sericata* nuclease digests DNA associated with wound slough/eschar and with *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. **Medical and veterinary entomology**, v. 26, n. 4, p. 432-439, 2012.
- BUZZI, M.; FREITAS, F.; WINTER, M. B. Pressure ulcer healing with Plenusermax® *Calendula officinalis* L. extract. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 69, p. 250-257, 2016.
- CALDERON, M. S. *et al.* Combined therapy of Ulmo honey (*Eucryphia cordifolia*) and ascorbic acid to treat venous ulcers. **Revista latino-americana de enfermagem**, v. 23, p. 259-266, 2015.
- CAZANDER, G. *et al.* Multiple actions of *Lucilia sericata* larvae in hard-to-heal

wounds: larval secretions contain molecules that accelerate wound healing, reduce chronic inflammation and inhibit bacterial infection. **Bioessays**, v. 35, n. 12, p. 10831092, 2013.

ČEŘOVSKÝ, V. *et al.* Lucifensin, the long-sought antimicrobial factor of medicinal maggots of the blowfly *Lucilia sericata*. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 67, n. 3, p. 455-466, 2010.

CHERNIN, E. Surgical maggots. **South Med J**, v. 79, p. 1143-1145, 1986.

FERREIRA, M. J. M. **Sinantropia de dípteros muscóides de Curitiba (Calliphoridae e Sarcophagidae)**. Dissertação (Mestrado em Etomologia) – Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, p. 105. 1975.

FRANCESCONI, F.; LUPI, O. Myiasis. **Clinical microbiology reviews**, v. 25, n. 1, p. 79-105, 2012.

FRANCO, L. C. **Evaluation of the acceptability of larval therapy in wound care. 2010. 112 f.** Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, p. 112. 2010.

GAMA, R. A. *et al.* Terapia larval: protocolo básico de manutenção, desinfecção, transporte e aplicação de larvas de *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae). **Entomological Communications**, v. 3, p. ec03022ec03022, 2021.

GARCIA, T. F. *et al.* Perfil microbiológico das infecções de úlceras de perna: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 74, 2021.

HUBERMAN, L. *et al.* Antibacterial substances of low molecular weight isolated from the blowfly, *Lucilia sericata*. **Medical and veterinary entomology**, v. 21, n. 2, p. 127131, 2007.

JAKLIČ, D. *et al.* Selective antimicrobial activity of maggots against pathogenic bacteria. **Journal of medical microbiology**, v. 57, n. 5, p. 617-625, 2008.

KUMAR, V. *et al.* Robbins & Cotran Patologia – Bases Patológicas das Doenças. 9ª Edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

LEITE, A. P. *et al.* Uso e efetividade da papaína no processo de cicatrização de feridas: uma revisão sistemática. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, v. 33, p. 198207, 2012.

MALEKIAN, A. *et al.* Efficacy of maggot therapy on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in diabetic foot ulcers: a randomized controlled trial. **Journal of Wound Ostomy & Continence Nursing**, v. 46, n. 1, p. 25-29, 2019.

MARCONDES, C. B. **Terapia larval de lesões de pele causadas por diabetes e outras doenças**. Florianópolis, Editora da UFSC, 2006. p. 88. ilus. ISBN 853280352-0.

MARTINS, L. G. V. **Identificação de casos de míases em pacientes de unidades de saúde de Natal/RN.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, p. 85. 2018.

MASIERO, F. S. *et al.* First record of larval secretions of *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (Diptera: Calliphoridae) inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Neotropical entomology**, v. 46, n. 1, p. 125129, 2017.

MASIERO, F. S. **O uso de larvas de dípteros (Arthropoda: Insecta) para o tratamento de lesões tegumentares: uma abordagem multissistêmica.** Tese (Doutorado em Parasitologia) – Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, p. 127. 2019.

MOYA-LÓPEZ, J. *et al.* Advantages of maggot debridement therapy for chronic wounds: a bibliographic review. **Advances in skin & wound care**, v. 33, n. 10, p. 515-525, 2020.

MUMCUOGLU, K. Y. *et al.* Maggot therapy for the treatment of intractable wounds. **International journal of dermatology**, v. 38, n. 8, p. 623-627, 1999.

MUMCUOGLU, K. Y. *et al.* Pain related to maggot debridement therapy. **Journal of wound care**, v. 21, n. 8, p. 400-405, 2012.

NIGAM, Y. *et al.* Maggot therapy: the science and implication for CAM part I – history and bacterial resistance. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v. 3, n. 2, p. 223-227, 2006.

PEČIVOVÁ, J. *et al.* Effect of the extract from salivary glands of *Lucilia sericata* on human neutrophils. **Neuroendocrinology Letters**, v. 29, n. 5, p. 794-797, 2008.

PINHEIRO, M. A. R. Q.; **Terapia larval: uso de larvas de *Chrysomya megacephala* (Diptera, Calliphoridae) no tratamento de úlceras crônicas em pacientes diabéticos no Hospital Universitário Onofre Lopes-Natal.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, p. 81. 2014.

PINHEIRO, M.A. R. Q., *et al.* Use of maggot therapy for treating a diabetic foot ulcer colonized by multidrug resistant bacteria in Brazil. **Indian J Med Res**, v. 141, n.3, p. 340-342, 2015.

PRITCHARD, D. I.; NIGAM, Y. Maximising the secondary beneficial effects of larval debridement therapy. **Journal of wound care**, v. 22, n. 11, p. 610-616, 2013.

RAFTER, L. Using larval therapy in the community setting. **British journal of community nursing**, v. 18, n. Sup12, p. S20-S25, 2013.

RAPOSIO, E. *et al.* Larval therapy for chronic cutaneous ulcers: historical review and future perspectives. **Wounds: a compendium of clinical research and practice**, v.

29, n. 12, p. 367-373, 2017.

ROMEYKE, T. Maggot Therapy as a Part of a Holistic Approach in the Treatment of Multimorbid Patients with Chronic Ulcer. **Clinics and Practice**, v. 11, n. 2, p. 347357, 2021.

SHERMAN, R. A. Mechanisms of maggot-induced wound healing: what do we know, and where do we go from here? **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v. 2014, 2014.

SILVA, M. F. A. **Espécie de *Chrysomya megacephala* (Fabrícus, 1974) (Diptera: Calliphoridae) na região do Agreste alagoano**. Orientador: Edmilson Santos Silva. 2020. 42. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação – Licenciatura em Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Alagoas, Arapiraca. 2020. Disponível em: <https://ud10.arapiraca.ufal.br/repositorio/publicacoes/3623>. Acesso em: 15 de maio de 2022.

TANTAWI, T. I. *et al.* Clinical and microbiological efficacy of MDT in the treatment of diabetic foot ulcers. **Journal of wound care**, v. 16, n. 9, p. 379-383, 2007.

TEIXEIRA, D. G. **Principais dípteros causadores de míases**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, p. 45. 2013.

TÉLLEZ, G. A. *et al.* Larvaterapia aplicada a heridas con poca carga de tejido necrótico y caracterización enzimática de la excreción, secreción y hemolinfa de larvas. **Biomédica**, v. 32, n. 3, p. 312-320, 2012.

TOMBULTURK, F. K.; KANIGUR-SULTUYBEK, G. A molecular approach to maggot debridement therapy with *Lucilia sericata* and its excretions/secretions in wound healing. **Wound Repair and Regeneration**, v. 29, n. 6, p. 1051-1061, 2021.

VALACHOVÁ, I. *et al.* Expression of lucifensin in *Lucilia sericata* medicinal maggots in infected environments. **Cell and Tissue Research**, v. 353, n. 1, p. 165-171, 2013.

VIEIRA, C. P. B.; ARAÚJO, T. M. E. Prevalence and factors associated with chronic wounds in older adults in primary care. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 52, 2018.

ZHANG, Z. *et al.* Activity of antibacterial protein from maggots against *Staphylococcus aureus* in vitro and in vivo. **International journal of molecular medicine**, v. 31, n. 5, p. 1159-1165, 2013.

# MECANISMOS GENÉTICOS PRESENTES NO DIAGNÓSTICO E PROGNÓSTICO DA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

## GENETIC MECHANISMS PRESENT IN THE DIAGNOSIS AND PROGNOSIS OF CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

Eduardo Rosa Mantovani<sup>1</sup>  
Anelise Franciosi<sup>2</sup>  
Andressa Megumi Niwa<sup>3</sup>

346

### RESUMO

A leucemia mieloide crônica se trata de uma neoplasia mieloproliferativa que ocorre, na maioria das vezes, devido à translocação recíproca e balanceada entre os cromossomos 9 e 22, t(9;22), resultando no gene híbrido *BCR-ABL* no cromossomo Philadelphia (Ph), que desencadeia uma perda progressiva de controle do ciclo celular e morte por apoptose. O primeiro relato da patologia ocorreu em 1841 na cidade de Glasgow pelo médico David Craigie, levando a uma série de estudos científicos acerca do tema para que, em 1980, chegassem de fato até a sua origem causadora. A patologia é dividida em três fases, sendo elas fase crônica, acelerada e avançada ou blástica. A maioria dos diagnósticos ocorre na fase crônica, possibilitando um melhor prognóstico para o paciente. Com o objetivo de abordar o tema com ênfase no âmbito genético, o cromossomo Ph foi estudado, assim como os seus mecanismos de ação celular e tratamentos inibitórios, como os inibidores de tirosina kinase de primeira, segunda e terceira geração e o transplante alogênico, a presente revisão bibliográfica foi realizada por meio de pesquisas em bancos de dados como Scielo e Pubmed. Para uma melhor veracidade acerca dos fatos, foram selecionados artigos publicados preferencialmente nos últimos dez anos, a fim de apresentar para o leitor estudos como finalidade esclarecer a causa, a sintomatologia e os avanços dos tratamentos para a patologia, esclarecendo os mecanismo e funcionamento dos medicamentos no organismo na tentativa de pausar ou amenizar os danos causados pela patologia e oferecer um melhor prognostico ao paciente.

**Palavras-chaves:** leucemia mieloide crônica; cromossomo Philadelphia; inibidores de tirosinoquinase.

### ABSTRACT

Chronic myeloid leukemia is a myeloproliferative neoplasm that occurs, most of the

<sup>1</sup> Discente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). E-mail: eduard.unifil.br@edu.unifil.br.

<sup>2</sup> Graduada em Biomedicina pelo Centro Universitário Filadélfia (UniFil). Mestrado em Patologia Experimental, UEL. Doutorado em Patologia Experimental, UEL. Coordenadora do curso de Biomedicina e Docente de ensino superior no Centro Universitário Filadélfia (UniFil). E-mail: anelise.franciosi@unifil.br.

<sup>3</sup> Graduada em Biomedicina pela Universidade Estadual de Londrina (UEL). Mestrado em Genética e Biologia Molecular, UEL. Doutorado em Genética e Biologia Molecular, UEL. Docente de ensino superior no Centro Universitário Filadélfia (UniFil). E-mail: andressa.niwa@unifil.br.

time, due to the reciprocal and balanced translocation between chromosomes 9 and 22, t(9;22), originated in the BCRABL hybrid gene on the Philadelphia chromosome (Ph), which triggers a progressive loss of cell cycle control and death by apoptosis. The first report of the pathology occurred in 1841 in the city of Glasgow by the physician David Craigie, leading to a series of scientific studies on the subject so that, in 1980, they actually arrived at its causative origin. The pathology is divided into three phases, which are chronic, accelerated and advanced or blastic phase. Most diagnoses occur in the chronic phase, allowing a better prognosis for the patient. With the aim of approaching the subject with an emphasis on genetics, the chromosomal Ph was studied, as well as its cellular action switches and inhibitory treatments, such as first, second and third generation tyrosine kinase inhibitors and allogeneic transplantation, the present bibliographic review was carried out through searches in databases such as Scielo and Pubmed. For a better veracity about the facts, articles published preferably in the last ten years were selected, in order to present to the reader studies how to clarify the cause, the symptomatology and the advances of the treatment for the pathology, understanding the mechanism and functioning of the medicines in the organism in an attempt to pause or alleviate the damage caused by the pathology and offer a better prognosis to the patient.

**Keywords:** chronic myeloid leukemia; Philadelphia chromosome; tyrosine kinase inhibitors

## 1 INTRODUÇÃO

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é uma neoplasia mieloproliferativa que se caracteriza pela proliferação excessiva de granulócitos já maduros ou que se encontram no processo de amadurecimento (BRASIL, 2021). Pode ocorrer na maioria das vezes pela presença do gene quimérico *BCR – ABL*, resultante da translocação recíproca e balanceada entre os braços longos dos cromossomos 9 e 22 t(9;22), levando à fusão do gene *BCR* (*breakpoint cluster region protein*) com o gene *ABL* (*abelson murine leukemia viral oncogene homolog*), que, juntos, expressam uma tirosina quinase. Essa proteína desencadeia um descontrole do ciclo celular, acarretando em apoptose, desempenhando um papel fundamental na patogênese da LMC (APPERLEY, 2015).

Essa patologia corresponde a cerca de 15% de todas as leucemias em pacientes na fase adulta com idade média de 67 anos e menos de 10% dos casos em pacientes com menos de 20 anos. Em países como Estados Unidos da América (EUA), no ano de 2017, foram identificados 8.950 novos casos diagnosticados e cerca de 1.080 óbitos. Já no Brasil, nos anos de 2020 a 2022, segundo o Instituto Nacional

do Câncer (INCA), 10.810 novos casos de LMC foram diagnosticados por ano. No ano de 2019, 127.134 procedimentos quimioterápicos foram realizados em adultos, onde 15.892 casos de LMC ainda estavam ativos no país (BORTOLHEIRO, CHIATTONE, 2008; SIA – SUS, 2019; BRASIL, 2021).

Embora a LMC tenha sua origem em uma alteração genética, seu desenvolvimento ou quadro clínico é heterogêneo, tendo sua evolução dividida em três fases: crônica, acelerada e crise blástica, com seus respectivos níveis de comprometimento celular, sendo que se for diagnosticado na fase crônica o quadro prognóstico é melhor (BORTOLHEIRO, CHIATTONE, 2008).

O diagnóstico da LMC é realizado por diversos métodos como exames microscópicos, citometria de fluxo, biomoleculares, hemogramas e mielogramas, exame de PCR qualitativa, onde é analisado o marcador molecular do gene *BCR-ABL*, a PCR quantitativa, bem como a presença do cromossomo Philadelphia (Ph), a principal característica da LMC (SANTOS et al., 2019).

O tratamento dessa patologia é uma via de mão dupla, ou seja, podendo ser realizado através do transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH), ou por meio do tratamento medicamentoso com o uso de bussulfan, hidroxiureia e ITK (inibidores de tirosina quinase). Entre eles estão os ITKs de primeira geração, como o mesilato de imatinite, que atua através do mecanismo de competição do sítio usado pela tirosina quinase codificada pelo gene *BCR – ABL*. Já os ITKs de segunda geração, como o nilotinibe, bosutinibe e dasatinibe, possuem o mesmo mecanismo de funcionamento do imatinibe, porém são usados apenas quando o paciente adquire resistência ao ITK de primeira geração (SOSSELA et al., 2017).

Considerando os avanços na caracterização da doença e o desenvolvimento de técnicas mais avançadas de diagnóstico e tratamento, o presente artigo possui a finalidade de constituir uma revisão bibliográfica acerca do tema LMC e todas as suas características, como a etiologia genética, evolução do tratamento farmacológico, sintomatologia e formas de diagnóstico, a fim de amparar o profissional da saúde na melhor maneira de acompanhar o paciente em seu tratamento.

## 2 METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado por meio de pesquisa bibliográfica de caráter

exploratório e qualitativo contendo dados, conceitos e técnicas retirados de artigos científicos, teses e dissertações sobre o tema em bibliotecas, sites e plataformas online como o SciELO, PubMed e o Google Acadêmico. A fim de obter um trabalho com temas mais atuais, foi dada preferência para trabalhos publicados nos últimos dez anos (2012 a 2022).

### 3 LEUCEMIA

O termo leucemia é derivado do grego "leukemie" e tem como significado "sangue branco". É uma neoplasia caracterizada pelo acúmulo de células jovens alteradas na medula óssea substituindo as células normais do sangue (BOECHAT et al., 2017, SOUZA et al., 2013).

A leucemia pode ser classificada de acordo com a velocidade da sua proliferação celular e o tipo de linhagem celular afetada. Se as células afetadas forem de origem linfóide ou afetar um tecido linfóide, a leucemia é denominada de Leucemia Linfóide e quando as células alvo são de natureza mieloide é chamada de Leucemia Mieloide (BOECHAT et al., 2017).

Um outro método de classificação é a análise da progressão da patologia, ou seja, aguda ou crônica. A fase aguda ocorre quando alguns glóbulos brancos perdem ou tem a sua sequência de ácidos desoxirribonucleicos afetada, permanecendo imaturos e a crônica ocorre quando as células afetadas ainda conseguem realizar as suas funções primordiais, porém replicando-se de forma lenta e tendo um período de funcionamento estendido. Por esse motivo, alguns casos de Leucemia crônica não apresentam sintomas iniciais, podendo levar ao diagnóstico tardio (HAMERSCHLAK, 2008; BOECHAT et al., 2017).

#### 3.1 Descoberta e histórico da Leucemia Mieloide Crônica

A Leucemia Mieloide Crônica pode ser definida como uma patologia de desordem mieloproliferativa clonal que ocorre devido à translocação cromossômica recíproca que gera o onco-gene *BCR-ABL* (SOUZA et al., 2013). Historicamente, a LMC foi a primeira leucemia a ser identificada em um paciente, em 1841, na cidade de Glasgow – Escócia UK, onde o médico David Craigie atendeu um paciente com

um quadro de esplenomegalia e leucocitose. Após três anos, outro caso semelhante ocorreu, o que o fez levar as amostras dos pacientes a John Hughes Bennett, médico patologista, para a realização de uma autópsia, e suas descobertas foram publicadas no *Edinburgh Medical and Surgical Journal* em 1845 (MINCIACCHI et al., 2021; SHAN et al., 2019).

No mesmo ano, no Hospital Charite em Berlim - DE, o médico Rudolph Virchow atendeu um caso semelhante, em que o paciente veio a óbito em poucos meses e seu fígado foi submetido a uma autópsia na qual mostrava os mesmos aspectos vistos por Bennett (DEININGER, 2008).

No entanto, Bennett e Virchow discordavam sobre a origem da desordem. Bennett acreditava que o paciente veio a óbito devido a “presença de matéria purulenta no sangue”, o que sugere uma infecção sem causa evidente vindos de uma possível “pyemia”, ou seja, uma septicemia causada por bactérias formadoras de pus. Em seguida, produziu o termo “leucocitemia” ou “sangue de glóbulos brancos”. Já Virchow não acreditava nessa teoria e considerava que a causa seria uma alteração primária na hematopoiese, que ocorreria pelo excesso de corpúsculos incolores (glóbulos brancos), portanto, utilizou o termo “leukemie” no alemão, termo vindo do grego “sangue branco” (GOLDMAN, 2010; SOUZA et al., 2013).

Mais de 30 anos após o primeiro relato da doença, em 1872, Ernst Neumann comprovou que a leucemia se origina da medula óssea. Em 1960, dois pesquisadores, David Hugerford e Peter C. Nowell, notaram a presença de um cromossomo minúsculo em células cultivadas vindas da amostra sanguínea de sete pacientes com Leucemia. O cromossomo em questão se assemelhava muito a um cromossomo Y, porém, também estava presente nos resultados dos cariótipos de mulheres (XX), descobertas que foram rapidamente confirmadas, nomeando o “cromossomo anormal” de cromossomo Philadelphia (Ph) (GOLDMAN, 2010; BOECHAT et al., 2017).

Por volta de 1970, Rowley foi capaz de mostrar de fato que o cromossomo Ph se dava por uma translocação recíproca de material genético entre os cromossomos 9 e 22, designado como t (9; 22) (DEININGER, 2008). A virada de chave para o real entendimento da LMC veio com o crescimento exponencial da biologia molecular por volta dos anos 1950 a 1960, que por acaso acabou encorajando os pesquisadores a se indagarem se talvez a LMC pudesse ser proveniente de um vírus. Em 1970, Herbert

Abelson e David Baltimore em um trabalho conjunto conseguiram isolar um gene, demonstrado em um modelo murino. A partir desse estudo, em 1980, foi relatado que o gene homólogo humano Abelson (*ABL*), localizado no cromossomo 9, estava presente nos casos de translocação presentes na LMC resultando em um gene híbrido, que poderia ser o causador do mau funcionamento celular (GOLDMAN, 2010; FUNKE et al., 2010).

Em 1984, Niels Groffen em um experimento envolvendo as amostras de 17 portadores de LMC, foi encontrada uma região de 5,8kb no cromossomo 22, que mais tarde foi chamada de *BCR*. Logo após a descoberta do *BCR*, Owen Witte levantou uma hipótese, na qual dizia que a linhagem celular conhecida como K562 possuía a translocação entre o cromossomo 9 e 22, por conta disso possui a fusão dos genes *BCR* e *ABL*. Na década de 1980, diversos estudos colaboraram para o entendimento e pode-se verificar que a junção do gene híbrido *BCR-ABL* ocasionava a síntese de uma proteína de 210KD chamada p210-*BCR-ABL*. Porém, a real comprovação veio em 1990, quando Delay apresentou um estudo realizado com camundongos, em que foi observada uma doença muito semelhante à fase crônica do LMC a qual poderia ser produzida pela transferência do gene *BCR-ABL*, mediada por retrovírus, onde foi observado o aumento na propensão do desenvolvimento da leucemia e tumores sólidos, comprovando o seu papel na patogênese da LMC (SOSSELA et al., 2017; FUNKE et al., 2010). A tabela 1 destaca a ordem cronológica dos principais achados sobre a LMC.

**Tabela 1** - Quadro demonstrativo da evolução de descobertas acerca da LMC desde o seu descobrimento.

<b>1842</b>	Relatório de provável caso de leucemia por Donne em Paris
<b>1845</b>	Reconhecimento de leucemia (provavelmente LMC) como uma entidade patológica
<b>1846</b>	Primeiro diagnóstico de leucemia em um paciente vivo
<b>1880s</b>	Desenvolvimento de métodos para coloração de células sanguíneas
<b>1951</b>	Dameshek apresenta o conceito de doenças mieloproliferativas
<b>1960</b>	Peter Nowell e David Hungerford identificam o cromossomo philadelphia (22q-)
<b>1973</b>	Janet Rowley reconhece a natureza recíproca da translocação (9; 22)
<b>1984</b>	Descrição da região de cluster do ponto de interrupção ( <i>BCR</i> ) no cromossomo 22

<b>1985</b>	Identificação do gene de fusão <i>BCR-ABL</i> e p210- <i>BCR-ABL</i>
<b>1989</b>	Desenvolvimento de uma PCR de transcriptase reversa para medir os transcritos <i>BCR-ABL</i>
<b>1990</b>	Demonstração de que o gene <i>BCR-ABL</i> pode induzir uma doença semelhante à CML em camundongos
<b>1996</b>	Demonstração de bloqueio seletivo da atividade da quinase <i>BCR-ABL</i>
<b>1998</b>	O bloqueio da atividade da quinase <i>BCR-ABL</i> reverte os recursos da CML
<b>2001</b>	Reconhecimento de mutações não aleatórias no domínio da quinase <i>ABL</i>

Fonte: Adaptado de Goldman (2010); Minciacchi et al. (2021).

### 3.2 Incidência da LMC no Brasil e no mundo

Representando cerca de 15% dos casos de leucemia de adultos ao redor do mundo, sua incidência anual é de cerca de 1,6 casos/100.000 habitantes/ano com maior predominância do sexo masculino, que apresentam os primeiros sintomas por volta dos 55 anos de idade (APPERLEY, 2015). É muito rara em pacientes com menos de 20 anos, representando cerca de 10% dos casos nessa faixa etária. A maioria dos casos é uma doença esporádica, sem pré-disposição genética, e muitos estudos relacionam a LMC a pessoas exposta à radiação, como o caso de sobreviventes de bomba atômica da Segunda Guerra Mundial ou profissionais e pacientes expostos à radioterapia por anos consecutivos (BOLLMANN et al., 2011; HAMERSCHLAK, 2008). Segundo o INCA (2020), no Brasil, a estimativa de novos casos para o triênio 2020-2022 era de 10.810, sendo 5.920 homens e 4.290 mulheres e o número total de óbitos foi de 7,370, sendo 4,014 homens e 3,356 mulheres no ano de 2019 (ATLAS DE MORTALIDADE POR CANCER – SIM. 2019).

Na Europa, estima-se uma incidência anual de 1,2 casos por 100.000 habitantes (GONZALEZ et al., 2020). Em países como Espanha, França e Inglaterra, observa-se uma incidência de 0,8/100.000 habitantes, enquanto em países ocidentais como os Estados Unidos da América relatam 1,8/100.000. Em comparação, a Europa apresenta um total de 250.000 pacientes, enquanto nos EUA foram 70.000 pacientes nos anos de 2019 a 2020 (GONZALEZ et al., 2020).

Na Ásia e África, o diagnóstico de casos acontece geralmente em pessoas com faixa etária inferior a 50 anos, com uma ligeira predominância de casos do sexo

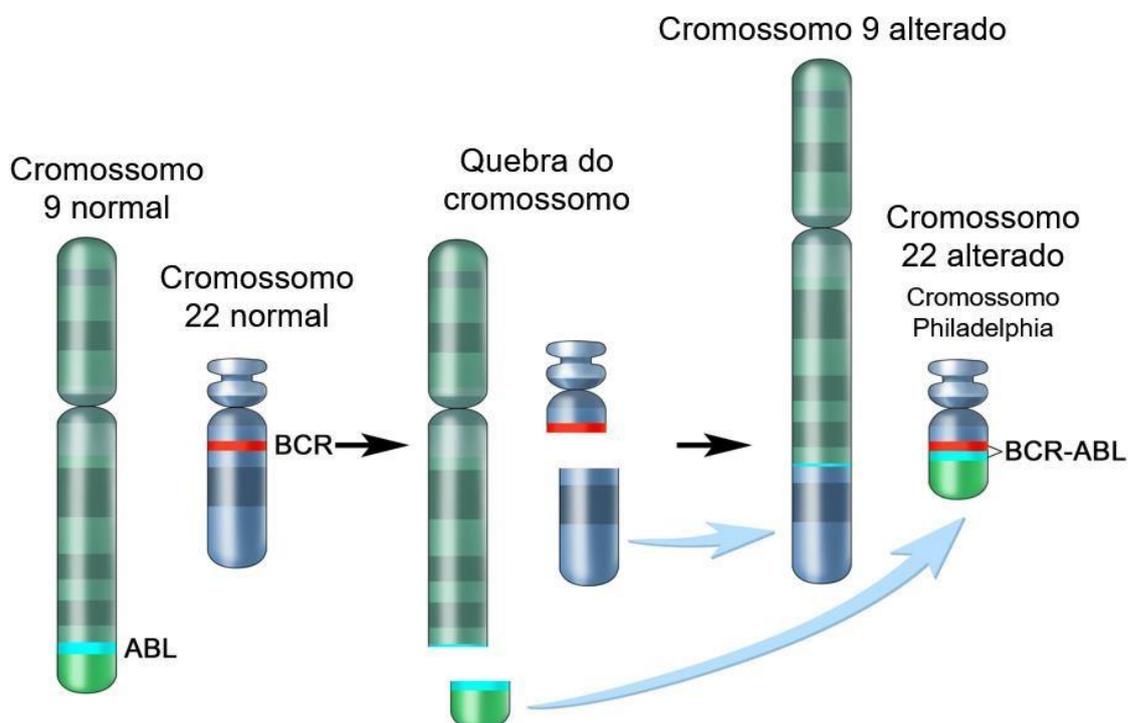
masculino. Como a LMC é uma doença que só apresenta sintomas quando está em um estágio avançado, grande parte dos casos são diagnosticados de forma tardia, por conta de não manifestar sintomas na sua fase inicial (GONZALEZ et al., 2020).

### 3.3 Aspectos genéticos da LMC – Cromossomo Philadelphia (Ph)

A LMC é uma patologia de caráter genético e foi a primeira neoplasia na qual foi identificada uma alteração cromossômica. Porém, isso não quer dizer que se trata de uma doença hereditária, ela se trata de uma translocação entre dois cromossomos (9 e 22), podendo ter sua origem advindos de fatores ambientais, tais como radiação ionizante. Foi descoberta na Pensilvânia na faculdade da Philadelphia, por isso, o cromossomo translocado resultante da fusão recebeu o nome de cromossomo Philadelphia (Ph) (HAMERSCHLAK, 2008).

Essa alteração cromossômica causadora do LMC é uma translocação recíproca e balanceada entre os braços longos dos cromossomos 9 e 22,  $t(9;22)(q34;q11)$ , formando o gene p210BCR-ABL, que está presente em 95% dos casos de Leucemia Mieloide Crônica (APPERLEY, 2015). O resultado da translocação recíproca forma o cromossomo Philadelphia (Ph), cuja presença desse cromossomo em pacientes com uma grande contagem de glóbulos brancos em seus exames é um critério de qualificação para a LMC (HAMERSCHLAK, 2008). Com a translocação recíproca, o gene *ABL*, mapeado no cromossomo 9, torna-se próximo ao gene *BCR*, encontrado no cromossomo 22, como mostra a figura 1.

**Figura 1** – Translocação recíproca e balanceada do cromossomo 9 e 22, t(9;22), resultando no gene híbrido *BCR-ABL* (p210BCR-ABL) no cromossomo Philadelphia – Ph



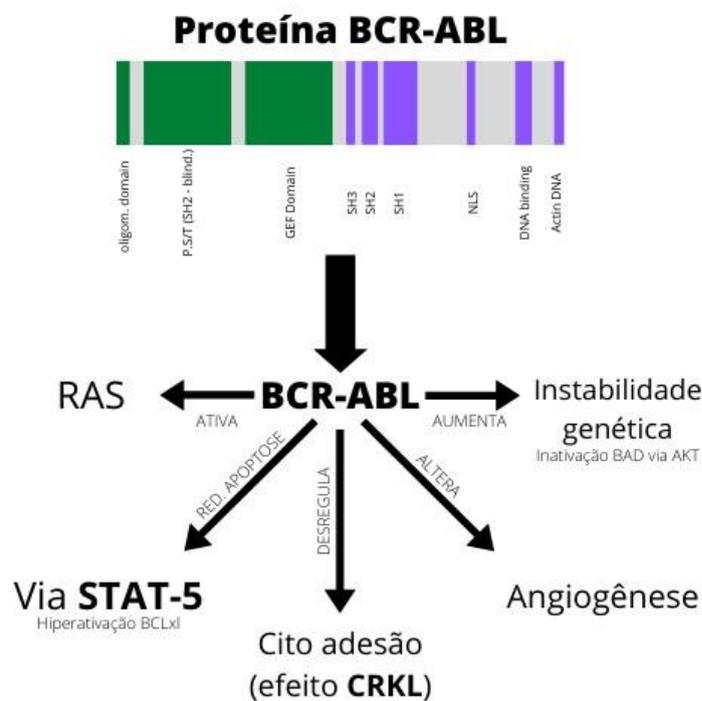
Fonte: Adaptado de NCI (2022)

Em condições normais, o gene *BCR* codifica uma proteína com função relacionada ao controle e regulação do ciclo celular, enquanto o gene *ABL* codifica uma proteína tirosina quinase (BERGANTINI, 2005). As tirosinas quinases são mediadores de cascata de sinalização de extrema importância, presentes em diversos processos biológicos nos quais podemos destacar o desenvolvimento celular, diferenciação, replicação e apoptose de células em resposta a estímulos tanto internos quanto externos. Já a proteína quimérica resultante da fusão do *BCR-ABL* estimula o aumento da função da tirosina quinase, causado pela hiperatividade do gene *p210BCR-ABL* responsável pelo oncogene inicial da LMC e liberação de efetores de proliferação celular em conjunto com inibidores de apoptose (BERGANTINI, 2005; SHAN et al., 2019; SOSSELA et al., 2017).

Além disso, muitas alterações ocorrem no organismo devido à LMC, como o aumento da proliferação celular (ativação da via RAS) e diminuição da morte programada das células, o que pode ocasionar o aumento do nível de células “velhas”, levando à formação de tumores. Isso ocorre via STAT5, hiperativação da molécula

anti-apoptótica (BCLx1) e inativação da molécula pró-apoptótica (BAD via AKT), como ilustrado na figura 2. Também ocorre desregulação da adesão celular, assim promovendo a liberação prematura de células mieloides imaturas na corrente sanguínea (efeito CRKL), além de ocorrer alteração na angiogênese (formação de novos vasos sanguíneos) e aumento considerável da instabilidade genética, fatores esses que viabilizam a progressão da doença no organismo (BOLLMANN et al., 2011).

**Figura 2** – Figura esquemática dos mecanismos de ação da proteína sintetizada através do gene *BCR-ABL*



**Fonte:** O autor (2022)

### 3.3.1 Métodos de diagnóstico da LMC

Os fatores que implicam em um diagnóstico preciso para a Leucemia Mieloide Crônica se dividem em critérios citológicos e genéticos (MINCIACCHI et al., 2021). De forma geral, o diagnóstico é baseado na contagem sanguínea, onde é comum observar quadros de trombocitose (aumento na quantidade e na morfologia ou tamanho das plaquetas circulantes), leucocitose (aumento no nível sérico de leucócitos) e no diferencial patológico com a presença de granulócitos imaturos, metamielócito, mieloblastos e basofilia (SOUZA et al., 2012). A doença pode ser

diagnosticada por meio da confirmação da presença do cromossomo Ph pelo exame de cariótipo. Quando o cromossomo Ph não é encontrado, é comum recorrer para métodos moleculares para a investigação do rearranjo do *BCR-ABL* nas células da medula óssea ou no sangue periférico (BOLLMANN et al., 2011; SOUZA et al., 2012).

### 3.3.2 Classificação de prognóstico da Leucemia Mieloide Crônica

Com o passar do tempo e com o desenvolvimento de estudos acerca do tema LMC, foi desenvolvido um método de classificação/Análise do prognóstico do portador, sendo eles o SOKAL score, Euro e EUTOS. Assim, por meio desses, pode-se conferir ao paciente a escolha do melhor tratamento com base em seu estado clínico atual. O método de análise classifica os doentes em zonas de risco, sendo elas de risco baixo, intermediário e alto e usa critérios como idade, contagem plaquetária, esplenomegalia e contagem de blastos no sangue periférico (BACCARANI et al., 2013).

Assim como o SOKAL, o score de Euro divide os portadores com o uso dos mesmos critérios, ou seja, uma avaliação por meio das zonas de risco e a avaliação hematológica. Já o score de EUTOS os divide em apenas duas categorias, sendo elas baixo e alto risco, tendo como base a contagem de basófilos periféricos e esplenomegalia (BACCARANI et al., 2013).

### 3.3.3 Fases da Leucemia Mieloide Crônica

A Leucemia Mieloide Crônica é dividida em 3 fases: fase crônica, acelerada e avançada ou blástica (SOUZA et al., 2012). A fase crônica é a etapa inicial da doença em que a maioria dos diagnósticos ocorrem. Pode ser assintomática ou com sintomas leves na maioria dos casos, como anemia, artralgia (dor em articulações), parestesia palmar (dor em mãos/punhos), hepatoesplenomegalia, além da presença de sintomas de hipercatabolismo, como fadiga, perda ponderal (perda de peso), febre e sudorese noturna (SOSSELA et al., 2017). Essa fase dura geralmente de três a cinco anos em tratamento com uso de fármacos usuais, porém, se a doença não for controlada, as células leucêmicas podem se espalhar para outras áreas do corpo, inicialmente de forma lenta, mas pode aumentar a proliferação e iniciar uma progressão mais rápida, apresentando uma forma aguda de leucemia com crescimento rápido, podendo invadir

os principais órgãos do corpo (SHAN et al., 2019).

A fase acelerada é marcada pelo aparecimento de células imaturas (blastos) no sangue periférico e/ou na medula óssea. Nesta fase, também é observado um aumento mais evidente do baço (SOSSELA et al., 2017; HAMERSCHLAK, 2008). Para o diagnóstico da fase acelerada, é necessária a presença de 1% a 19% de blastos na corrente sanguínea, número de basófilos superior a 20% e presença de trombopenia ou trombocitose não relacionada à terapia (SOUZA et al., 2012).

E, por fim, no último estágio da doença, quando a fase acelerada não é tratada, inicia-se a fase blástica, que é caracterizada pela presença de palidez, aumento do quadro de hepatoesplenomegalia, equimoses fáceis e percentual superior a 20% de infiltração blástica extramedular (SOUZA et al., 2012). Essa fase se assemelha à Leucemia Mieloide Aguda (LMA), onde observamos o acúmulo de blastos imaturos na medula óssea podendo se espalhar para tecidos e órgãos (BAVARO et al., 2019). Nota-se também na fase blástica a ocorrência de sangramentos, falência múltipla dos órgãos, com sobrevida de três a seis meses para portadores sem tratamento (SOSSELA et al., 2017).

#### **4 TRATAMENTO DA LMC**

Os métodos de tratamento da Leucemia Mieloide Crônica foram iniciados na década de 1950, em que era realizado tratamento com radioterapia, uma solução paliativa para a época. Com a evolução dos estudos na área por motivos bélicos relacionados à Segunda Guerra Mundial, desenvolveu-se uma droga chamada Bussulfano, que em grande parte substituiu a radioterapia. Porém, seu uso foi descontinuado após alguns anos, pois foram observados alguns efeitos colaterais indesejados, como o desenvolvimento de pancitopenia devido à alta carga medicamentosa que acomete a medula óssea com o uso contínuo do medicamento, ocorrendo uma mielossupressão reduzindo o número de eritrócitos, leucócitos e plaquetas no sangue periférico (RYU et al., 2010; GOLDMAN, 2010; HAMERSCHLAK, 2008).

No início dos anos 70, surgiu a Hydrea (hidroxiuréia), utilizada no controle da doença durante muito tempo, cujo mecanismo de ação não foi completamente elucidado, porém, acredita-se que seus efeitos antineoplásicos possam ser advindos

de uma inibição imediata do ácido desoxirribonucleico (DNA), agindo como um inibidor de ribonucleotídeo redutase. Porém, assim como os outros até o momento, esse medicamento não mudava o curso clínico da doença, que continuava evoluindo (HAMERSCHLAK, 2008).

Na década de 1980, foi comprovada a eficácia do interferon-alfa (IFN- $\alpha$ ), cuja principal utilidade no combate à LMC era estabelecer respostas hematológicas e citogenéticas, parciais ou completas, prolongando a sobrevida do portador. Com o passar dos anos, o IFN- $\alpha$  substituiu gradativamente o Hydrea e o Bussulfano, e chegou ao ponto de ser antiético o uso de outros medicamentos com a existência de outro com maior eficácia comprovada. Era usado principalmente em pacientes que se encontravam na fase crônica, ou seja, recém diagnosticados (BOLLMANN et al., 2011; GOLDMAN, 2010; HAMERSCHLAK, 2008).

Ainda em 1980, surgiram as primeiras experiências de transplante de célula tronco hematopoiética (TACTH) em pacientes que se encontravam na fase crônica. Esse tratamento foi considerado a primeira modalidade curativa de fato, com mortalidade relativa ao transplante na casa dos 10 a 20% em um ano e sobrevida em mais de 5 anos em 60% dos casos após a realização da TACTH. A maioria dos pacientes que passaram por esse procedimento não apresentaram nenhuma evidência de retorno da doença. Pacientes em que foi observada reincidência iniciavam um tratamento de infusão de linfócitos de um doador, ficando claro que o uso da TACTH no tratamento da LMC era benéfico devido ao efeito enxerto *versus* doador, causando uma melhora no quadro mediada pelos linfócitos do doador. Porém, essa solução não tinha um alvo específico por se tratar de um método que ainda não está totalmente elucidado (BOLLMANN et al., 2011).

Em 1990, o TACTH se tornou o tratamento de preferência para pacientes com menos de 50 anos que estavam no estágio inicial da doença, ou seja, na fase crônica. Já os pacientes que não se enquadravam nos requisitos para o transplante, era indicado o uso do IFN- $\alpha$  associado à citarabina para uma maior eficácia, em que houve um aumento de 86% na sobrevida em comparação aos pacientes que mantiveram o uso do INF- $\alpha$  em monoterapia (BOECHAT et al., 2017).

Na mesma década, com a descoberta do gene híbrido *BCR-ABL* nos anos seguintes, desenvolveu-se uma nova droga para o tratamento capaz de inibir a

atividade da oncoproteína, nomeada inicialmente de STI571, porém conhecida atualmente como Imatinibe, que atua como um medicamento alvo, tornando a LMC a primeira doença com um tratamento chamado de “terapia-alvo” (BRAUN et al., 2020). Pertencente ao grupo de inibidores de tirosina quinase (ITK), o Imatinibe não atua sobre a origem propriamente dita da doença, ou seja, a codificação equivocada causada pelo oncogene *BCR-ABL*, ele atua competindo pelo sítio de ligação do ATP, impedindo que a tirosina quinase seja fosforilada, repelindo o mecanismo que causa proliferação celular exacerbada, retornando a sua função normal de proliferação e apoptose (BOECHAT et al., 2017; AZEVEDO et al., 2017). No experimento realizado pelo Dr. Brian Druker do Knight Cancer Institute (BRAUN et al., 2020), foi constatado que o imatinibe possui uma boa eficácia reduzindo a ação da tirosina quinase nas células afetadas pelo gene quimérico *BCR-ABL* em 92 a 98%. Posteriormente, foi comprovado ser mais eficaz que o tratamento combinado do IFN- $\alpha$  e citarabina utilizada pelos médicos anteriormente, provada pelo estudo IRIS (*Internacional Randomized Study of Interferon and STI571*) (DEININGER et al., 2009; BOLLMANN et al., 2011).

O Imatinibe, a partir do século 21, se tornou a referência no tratamento da LMC, por sua eficácia comprovada. A partir do surgimento do imatinibe, surgiram novos critérios de avaliação da resposta e monitoramento da doença tendo como objetivo padronizar o curso do tratamento da LMC, criados pelo grupo Leukemia Net (BACCARANI et al., 2009; BOLLMANN et al., 2011; SHAN et al., 2019).

#### **4.1 Mecanismos de resistência ao inibidor de tirosina quinase (ITK's)**

Como já elucidado, o medicamento de maior eficácia para o tratamento da LMC em fase precoce é o inibidor de tirosina quinase, atuando como proteínas de auxílio na fosforilação, catalisando a transferência de  $\gamma$ -fosfato de uma molécula de ATP para o grupo hidroxila, agindo assim como interruptores que controlam as principais vias de sinalização celular, podendo apresentar resistência em alguns tratamentos (SHEKHAR et al., 2022)

Essa resistência pode ser explicada por meio das mutações de domínio quinase da proteína *BCR-ABL*, sendo divididos em dependentes ou não do gene quimérico. Entre os dependentes, estão a amplificação genética e pontos de mutação

da molécula e, entre os não dependentes, se enquadram as alterações da expressão de proteínas transmembranas de influxo e de efluxo, alterações na transdução do sinal celular e super expressão do gene *BCR-ABL*, sendo esta última a mais temida. Na presença da mutação do *BCR-ABL*, chamada de T315I, recomenda-se o uso apenas de Ponatinibe, sendo o único fármaco clinicamente apropriado para tal resistência ao restante dos ITK's (SHEKHAR et al., 2022; AZEVEDO et al., 2017).

Entre os mecanismos citados, a resistência medicamentosa pode ser classificada como resistência primária ou secundária visando o Imatinibe. É classificada como primária, quando o paciente nunca apresentou resposta desde o início do tratamento, e secundária, quando o mesmo inicialmente apresentou resposta, mas logo após houve resistência, sendo estes mecanismos dependentes ou não do *BCR-ABL* (BOLLMANN et al., 2011).

#### 4.2 Novos tratamentos

A ciência trilhou e ainda trilha um longo caminho em busca da cura da LMC. O surgimento do Imatinibe, em 1998, foi um progresso no tratamento da LMC, que se tornou referência no tratamento devido à sua ação seletiva. Porém, a ciência não para de evoluir e com diversos estudos na área, novos inibidores de tirosina quinase foram desenvolvidos, chamados de ITK de segunda geração, entre eles estão o Desatinibe e Nilotinibe (BOLLMANN et al., 2011).

O primeiro ITK de segunda geração desenvolvido foi o Desatinibe, aprovado em 2006 para o uso contra a LMC em fase crônica (FC), fase acelerada (FA) e fase blástica, utilizado em pacientes intolerantes ou resistentes ao Imatinibe (SALES et al., 2019). É um derivado da piperazinila e possui ação inibitória contra quinases Src e *ABL*, incluindo o gene híbrido *BCR-ABL* do cromossomo Ph e a maioria das formas mutadas. Não é aplicada nos casos de mutação T315I, pois ela ocasiona a redução de afinidade de interação entre a tirosina quinase do oncogene e os ITKs, resultando na sua resistência, ou seja, se trata de uma mutação no domínio quinase do *BCRABL*, sendo recomendada a administração do Ponatinibe (BOLLMANN et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2020).

O Nilotinibe, inibidor de tirosina quinase em desenvolvimento logo após o Desatinibe, foi aprovado em 2007 para o tratamento de paciente com LMC em FC e

FA resistentes ou intolerantes ao ITK de primeira geração Imatinibe. O ITK Nilotinibe é composto por um derivado de aminopirimidina, que inibe a atividade da TK do *BCRABL* sendo capaz de se ligar somente a sua forma nativa e, assim como seu antecessor Desatinibe, possui uma resistência à mutação T315i (BOECHAT et al., 2017; NASCIMENTO et al., 2020).

Ao indício de qualquer falha ou perda de eficácia desses medicamentos, é necessário iniciar uma investigação a fundo, a fim de descobrir qual mutação está presente. Entre elas, a T315I é a mais importante, pois não responde aos inibidores de segunda geração, respondendo apenas ao Ponatinibe, Já a mutação Y253H se mostrou sensível ao Desatinibe e resistente ao Nilotinibe e, por fim, a mutação F317L é a mais sensível ao Nilotinibe que ao restante (HAMERSCHLAK, 2008).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é uma neoplasia de origem genética, originada de uma translocação recíproca, que resulta na produção de uma tirosina quinase que estimula a proliferação celular. A LMC foi a primeira neoplasia a ser tratada com um medicamento alvo, por meio dos inibidores de tirosina quinase (ITKs), a fim de conter a progressão da doença. Foram desenvolvidos os ITKs de primeira geração, o Imatinibe, e de segunda geração, como o Desatinibe e Nilotinibe. A amplitude de medicamentos foi necessária pelo fato do desenvolvimento de resistência ao Imatinibe, que, quando ocorre, tem como única modalidade curativa o transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH). Dessa forma, os avanços nos estudos sobre a LMC e as novas terapias estão sendo fundamentais para a sobrevivência dos pacientes e novos estudos devem surgir a fim de encontrar uma cura definitiva da doença.

## REFERÊNCIAS

APPERLEY, J. F. Chronic myeloid leukaemia. **The Lancet**, v. 385, n. 9976, p. 1447-1459, 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. Leucemia mieloide crônica. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 59, n. 3, p. 220–232, maio 2013.

AZEVEDO, L. D. de et al. Sínteses e propriedades de fármacos inibidores da tirosina quinase BCR-ABL, utilizados no tratamento da leucemia mieloide crônica. **Química Nova**, v. 40, p. 791-809, 2017.

BAVARO, L. et al. **Mechanisms of Disease Progression and Resistance to Tyrosine Kinase Inhibitor Therapy in Chronic Myeloid Leukemia: An Update**. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 20, n. 24, p. 6141, 5 dez. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção Especializada À Saúde Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos em Saúde. **Portaria Conjunta Nº 04**, DF, 2021.

BACCARANI, M. et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 122, n. 6, p. 872-884, 2013.

BERGANTINI, A. P. F. et al. Leucemia mielóide crônica e o sistema Fas-FasL. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 27, n. 2, jun. 2005.

BOECHAT, N. et al. **Sínteses e propriedades de fármacos inibidores da tirosina quinase BCR-ABL, utilizados no tratamento da Leucemia Mieloide Crônica**. *Química Nova*, 10 mar. 2017.

BOLLMANN, P. W.; GIGLIO, A. DEL. **Chronic myeloid leukemia: past, present, future**. *Einstein (São Paulo)*, v. 9, n. 2, p. 236–243, jun. 2011.

BRAUN, T. P.; EIDE, C. A.; DRUKER, B. J. **Response and Resistance to BCRABL1-Targeted Therapies**. *Cancer Cell*, v. 37, n. 4, p. 530–542, abr. 2020.

BORTOLHEIRO, T. C.; CHIATTONE, C. S. Leucemia Mielóide Crônica: história natural e classificação. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, p. 3-7, 2008.

DEININGER, M. et al. International Randomized Study of Interferon Vs STI571 (IRIS) 8-Year Follow up: Sustained Survival and Low Risk for Progression or Events in Patients with Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia in Chronic Phase (CMLCP) Treated with Imatinib. **Blood**, v. 114, n. 22, p. 1126–1126, 20 nov. 2009.

DEININGER, M. W. **Chronic Myeloid Leukemia: An Historical Perspective**. *Hematology*, v. 2008, n. 1, p. 418–418, 1 jan. 2008.

FUNKE, V. M. et al. Leucemia mieloide crônica e outras doenças mieloproliferativas crônicas. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, p. 71–90, maio 2010.

GOLDMAN, J. M. **Chronic Myeloid Leukemia: A Historical Perspective**. *Seminars in Hematology*, v. 47, n. 4, p. 302–311, out. 2010.

GONZÁLEZ, A. R. Leucemia mieloide crônica, paradigma de tratamiento en Oncohematología. **Revista Cubana de Hematología**, v 3, n. 36, editorial. 1308,

2020.

HAMERSCHLAK, N. **Leukemia: genetics and prognostic factors**. *Jornal de Pediatria*, v. 0, n. 0, 1 set. 2008.

INCA, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil** / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro: INCA, 2019.

MINCIACCHI, V. R.; KUMAR, R.; KRAUSE, D. S. **Chronic Myeloid Leukemia: A Model Disease of the Past, Present and future**. *Cells*, v. 10, n. 1, p. 117, 10 jan. 2021.

NASCIMENTO, J. M. T. P. D. et al. **Leucemia mieloide crônica refratária – presença de mutação T315i e resposta a Ponatinibe**. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, v. 42, p. 126, nov. 2020.

NCI - National Cancer Institute. Philadelphia chromosome. U.S. Department of Health and Human Services – U.S, 2022.

OLIVEIRA SALES, L. et al. **Comparison of BCR–ABL Transcript Variants Between Patients With Chronic Myeloid Leukaemia and Leukaemia Cell Lines**. *In Vivo*, v. 33, n. 4, p. 1119–1124, 2019.

RYU, J. et al. Change in serum proteome during allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and clinical significance of serum C-reactive protein and haptoglobin. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 42, n. 9, p. 651-661, 2010.

SHAN, Y. et al. **Leukemia Stem Cells in Chronic Myeloid Leukemia**. *Leukemia Stem Cells in Hematologic Malignancies*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Singapore: Springer Singapore, 2019. v. 1143p. 191–215.

SOSSELA, F. R.; ZOPPAS, Barbara Catarina De Antoni; WEBER, Liliana Portal. **Leucemia Mieloide Crônica: Aspectos Clínicos, Diagnóstico e Principais Alterações Observadas no Hemograma-Artigo de Revisão**.

SANTOS, M. M. F. et al. **Leucemia mieloide, aguda e crônica: diagnósticos e possíveis tratamentos**. 2019.

SHEKHAR, M. et al. Protein flexibility and dissociation pathway differentiation can explain onset of resistance mutations in kinases. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 61, n. 28, p. e202200983, 2022.

# DESINFORMAÇÃO POPULACIONAL E A INFLUÊNCIA NA EFETIVIDADE DO DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA MALÁRIA

## POPULATION MISINFORMATION AND THE INFLUENCE ON THE EFFECTIVENESS OF MALARIA DIAGNOSIS AND TREATMENT

Fernanda Barbosa Costa<sup>1</sup>  
Anelise Franciosi<sup>2</sup>

### RESUMO

Nos últimos anos, o crescimento populacional e urbano se deu de modo desordenado, contribuindo para o surgimento de vários problemas econômicos e socioculturais. Atrelado a isto, condições precárias de habitação, baixo índice de desenvolvimento humano e falta de saneamento básico, é uma das principais causas do aumento da malária a nível global. A malária, uma doença infecciosa febril aguda, endêmica em alguns estados do Brasil, é provocada por protozoários do gênero *Plasmodium*, em que a transmissão se dá comumente pela picada de fêmea do mosquito *Anopheles*. Essa parasitose é, portanto, um grave problema de saúde pública nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, em especial, no Brasil, o qual é formado por um contexto social urbano variado, principalmente em relação ao nível de escolaridade e ao acesso a informações, e isso impacta diretamente no conhecimento sobre a doença e no desenvolvimento de medidas profiláticas contra esta. Desta forma, para compreender a relação entre desinformação populacional e a doença causada pelo parasita em questão, foi traçado um paralelo epidemiológico com os resultados obtidos através das respostas de um questionário online, identificando o nicho de desinformação das pessoas. Com isso, notou-se a falta de conhecimento principalmente em relação aos sintomas e ao tratamento da malária, o que influencia diretamente no diagnóstico e no tratamento desta doença. Mesmo que os sintomas não sejam específicos da doença e que a população atualmente faz a prática da automedicação, com uma boa assistência de um serviço de saúde, seria possível reduzir o número de casos da malária.

**Palavras-chaves:** Brasil; desinformação populacional; toxicidade de fármacos.

### ABSTRACT

In recent years, population and urban growth has occurred in a disorderly way, contributing to the emergence of various economic and sociocultural problems. Linked to this, precarious housing conditions, low human development index and lack of basic sanitation is one of the main causes of the increase in malaria at a global level. Malaria, an acute febrile infectious disease, endemic in some states of Brazil, is caused by

<sup>1</sup> Discente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). E-mail: fernandabcosta80@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Docente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). Email: anelise.franciosi@unifil.br

protozoa of the genus *Plasmodium*, which is commonly transmitted by the bite of a female *Anopheles* mosquito. This parasitosis is, therefore, a serious public health problem in underdeveloped and developing countries, especially in Brazil, which is formed by a varied urban social context, mainly in relation to the level of education and access to information, and this directly impacts knowledge about the disease and the development of prophylactic measures against it. In this way, to understand the relationship between population misinformation and the disease caused by the parasite in question, an epidemiological parallel was drawn with the results obtained through the responses of an online questionnaire, identifying people's disinformation niche. With this, it was noted the lack of knowledge, mainly in relation to the symptoms and treatment of malaria, which directly influences the diagnosis and treatment of this disease. Even if the symptoms are not specific to the disease and the population currently practices self-medication, with good assistance from a health service, it would be possible to reduce the number of cases of malaria.

**Keywords:** Brazil; population misinformation; drug toxicity.

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre as diversas doenças existentes atualmente, a malária, também conhecida como paludismo, impaludismo, febre intermitente, febre terçã, febre quartã, maleita e outros, continua sendo um grande problema mundial, visto que a sua taxa de incidência continua alta, maiormente no continente africano (BRASIL, 2006).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que em 2020 houve um aumento no número de casos de malária, registrando 241 milhões de casos em 85 países, em comparação com o ano de 2019, que registrou 227 milhões de casos (BRASIL, 2022).

Um dos fatores que pode ter contribuído com esse aumento, particularmente em alguns países tropicais, é o aumento da resistência às drogas antimaláricas de fácil acesso, como a cloroquina, a quinina e a mefloquina, devido a automedicação (PINHEIRO et al., 2013).

Segundo Brasil (2022), 139.211 casos foram notificados no ano de 2021 no Brasil. Por conta disso, o Brasil é o segundo país com o maior número de casos na América, o qual concentra a maior parte dos casos na região amazônica. Isso está atrelado com o desenvolvimento da Amazônia nas décadas de 70 e 80, que acelerou o processo migratório, por conta de projetos de colonização e expansão da fronteira agrícola, construção de estradas e hidrelétricas, projetos agropecuários, extração de

madeira e mineração, fazendo com que as condições precárias socioeconômicas dessa população migrante, determinasse a expansão da doença, que nunca conseguiu ser controlada (FUNASA, 2001).

Contudo, essas condições precárias perduram até hoje no Brasil, com a enorme desigualdade na distribuição de renda e elevados níveis de pobreza, fazendo ocupar a lista dos países mais desiguais no mundo (CAMPELLO et al., 2018).

Em uma sociedade onde são evidentes a desigualdade e a pobreza, vai ter uma parcela significativa da população que não terá acesso a condições mínimas de cidadania, saúde e ensino (BARROS; HENRIQUES; MENDONÇA, 2000). Em relação ao ensino, essa população terá cada vez menos proximidade com o ensino escolar, principalmente pela falta de proximidade da realidade do indivíduo com esse ambiente.

Mesmo tendo avanços significativos no Brasil para que todos tenham acesso a todos os níveis escolares, a baixa escolaridade média da população continua sendo um grande problema, que acarreta na defasagem de vários conhecimentos importantíssimos para a vida em sociedade, já que a educação prepara o indivíduo para o exercício da cidadania, permite o seu pleno desenvolvimento e sua qualificação (CASTRO, 2009). Mas, além da falta de acesso ao ensino escolar, perdura no cenário brasileiro também, a desigualdade no acesso a informações científicas e a tecnologias, que também são de extrema importância para um indivíduo obter conhecimento (ALISSON, 2015).

Sendo assim, a malária continua sendo um grande desafio para a saúde pública brasileira, considerando essa desigualdade de acesso a serviços de saúde, ensino e informação (SCHRAMM NETO et al., 2022). Mas, também, considerando os impactos ambientais, como o desmatamento da Floresta Amazônica, em que a biodiversidade da Amazônia é diretamente afetada e isso leva o *Anopheles darlingi* a se tornar o principal vetor da malária na região, aumentando o risco de transmissão da doença e que, conseqüentemente, leva ao aumento de casos de malária (MARIZ, 2022).

Diante do exposto, esse trabalho tem como objetivo demonstrar como a desinformação populacional influencia na doença causada pelo parasita em questão, traçando um paralelo epidemiológico com os resultados obtidos através das respostas de um questionário online, a fim de identificar o nicho de desinformação das pessoas.

Por conseguinte, desenvolver uma cartilha de informações científicas acerca da doença para envio ao Ministério da Saúde, com o intuito de auxiliar no conhecimento desta parasitose.

## **2 MÉTODOS**

### **2.1 Referência bibliográfica**

Este trabalho foi construído por meio de uma referência bibliográfica descritiva utilizando artigos, dissertações e monografias publicadas e disponíveis em bases de dados online, como, PUBMED, SCIELO e GOOGLE ACADÊMICO, nos últimos 35 anos. A busca se deu pela pesquisa por palavras-chave, como, “malária”, “patogenia da malária”, “sintomas da malária”, “profilaxia da malária”, “tratamentos da malária”, “anemia na malária”, “diagnóstico laboratorial da malária”, “casos de malária no Brasil”, “região endêmica de malária no Brasil”, “desigualdade social brasileira” e “desigualdade na educação brasileira”.

### **2.2 Pesquisa de campo envolvendo seres humanos**

Primeiramente, foi produzido um projeto detalhado desta pesquisa para envio ao CEP-UniFil. Em seguida, foi produzido um questionário online através da plataforma Google Formulários, que juntamente com o projeto detalhado, foi submetido a Plataforma Brasil.

O questionário online foi formulado em duas sessões. A primeira sessão (apêndice A) consistiu em convidar a população e orientar os participantes para a participação na pesquisa, através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), o qual necessitou obrigatoriamente de aceite eletrônico para dar continuidade para a segunda sessão. A segunda sessão (apêndice B) consistiu no questionário, o qual foi composto por um total de 12 perguntas, sendo a primeira, uma pergunta de resposta única acerca da idade do participante, a segunda, uma pergunta de resposta aberta sobre qual estado em que o participante reside e outras 10 perguntas de múltipla escolha sobre temas gerais da malária. Assim, a pergunta 3 era “O que era a malária? ”, a pergunta 4 era “Qual é o vetor da malária? ”, a pergunta 5 era “Como a

malária é transmitida ao ser humano? ”, a pergunta 6 era “Qual o agente causador da malária? ”, a pergunta 7 era “Quais os principais sintomas apresentados por um paciente contaminado? ”, a pergunta 8 era “Como é feito o diagnóstico dessa doença? ”, a pergunta 9 era “Quais locais do corpo humano é infectado? ”, a pergunta 10 era “Como é feito o tratamento da malária?”, a pergunta 11 era “Quais são as medidas para a prevenção contra a malária? ” e a pergunta 12 era “No Brasil, a malária é típica de qual região? ”.

Após a aprovação pelo comitê de ética, sob nº 056077/2022, o questionário online foi disponibilizado a população por meio de mídias sociais, alcançando 159 pessoas de modo aleatório. Com a obtenção das respostas dos questionários, os dados foram baixados e analisados através do programa estatístico GraphPad Prism, e os resultados foram descritos neste trabalho de conclusão de curso para o título de bacharel em Biomedicina. Além do mais, foi produzida uma cartilha com informações científicas acerca da doença (apêndice C), que foi enviada ao Ministério da Saúde.

### **3 DESENVOLVIMENTO**

Atualmente, doenças e infecções são motivos de grande alarme para a sociedade. Especialmente as doenças parasitárias, também chamadas de parasitoses, causadas por um parasito protozoário ou metazoário, são um importante problema de saúde pública, pois elas afetam principalmente populações vulneráveis, por conta de condições socioeconômicas e sanitárias precárias (FREI; JUNCANSEN; RIBEIRO-PAES, 2018).

No Brasil, as parasitoses tiveram um declínio a partir da década de 1960, mas elas ainda persistem devido à um cenário multifacetado e um contexto social urbano diverso (SOUZA et al., 2020).

Isso pode ser notado por conta das condições precárias de higiene, das dificuldades econômicas, como também com o desconhecimento sobre as mais diversas doenças, a não realização de medidas profiláticas, a falta de capacitação dos profissionais de saúde, desequilíbrios ambientais devido ao desmatamento e a expansão urbana, permitindo uma condição favorável para o desenvolvimento dos vetores das parasitoses (SCHRAMM NETO et al., 2022).

De acordo com Cholewiński, Derda, Hadaś (2015), as doenças transmitidas por

vetores responsáveis pela maior incidência e mortalidade de pessoas, são as doenças parasitárias transmitidas por artrópodes, que inclui a malária, a babesiose, a tripanossomíase, a leishmaniose e a filariose. Dentre essas doenças, uma que se destaca é a malária, pois o número de mortos a cada ano continua elevado.

A malária é uma doença provocada por protozoários do gênero *Plasmodium*, os quais infectam os hepatócitos e as hemácias, e que possui uma evolução rápida, podendo ser fatal. É caracterizada por febre, dor de cabeça, tremores, dores pelo corpo e ligeira elevação da temperatura, com suores intensos (ANVISA; FIOCRUZ, 2014).

Segundo Tuteja (2007), a malária tem uma vasta distribuição, com muitas regiões endêmicas para essa doença, sendo uma delas, os países da África Subsaariana.

A região da África Subsaariana é composta por 47 países de um total de 54 países africanos. Desta forma, o continente africano representa a maioria dos casos registrados, concentrando mais de 90% da carga geral da doença e mesmo com medidas para reduções no número de mortes, o progresso diminuiu nos últimos anos, por conta da escassez de fundos para o enfrentamento da malária (OPAS/OMS, 2020).

Outra região endêmica é o Brasil, o qual é dividido em região não-endêmica e em região endêmica, também conhecida por região amazônica, sendo que esta é constituída pelos estados do Acre, Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins, e é responsável por cerca de 99,7% dos casos registrados no Brasil. Contudo, dentre estes estados, o Amazonas é o que possui o maior número de casos da doença (BRASIL, 2006).

A prevalência de casos na região Amazônica pode se dar principalmente por conta do fluxo de pessoas infectadas, levando a disseminação da malária, além de que estas localidades possuem características geográficas e ecológicas favoráveis a interação do parasito e do mosquito vetor, atrelado a fatores socioeconômicos, políticos e culturais, que determinam o nível de endemicidade como áreas de baixo, médio e alto risco malarígeno (BRASIL, 2006).

Vale evidenciar que existem muitas espécies de *Plasmodium*, os quais podem infectar espécies de animais, como répteis e mamíferos, mas apenas 4 podem infectar

humanos em condições naturais. No entanto, essas 4 espécies vão apresentar características morfológicas e imunológicas variadas, vão se diferenciar em sua distribuição geográfica e vão possuir respostas diferenciadas aos medicamentos antimaláricos (TUTEJA, 2007).

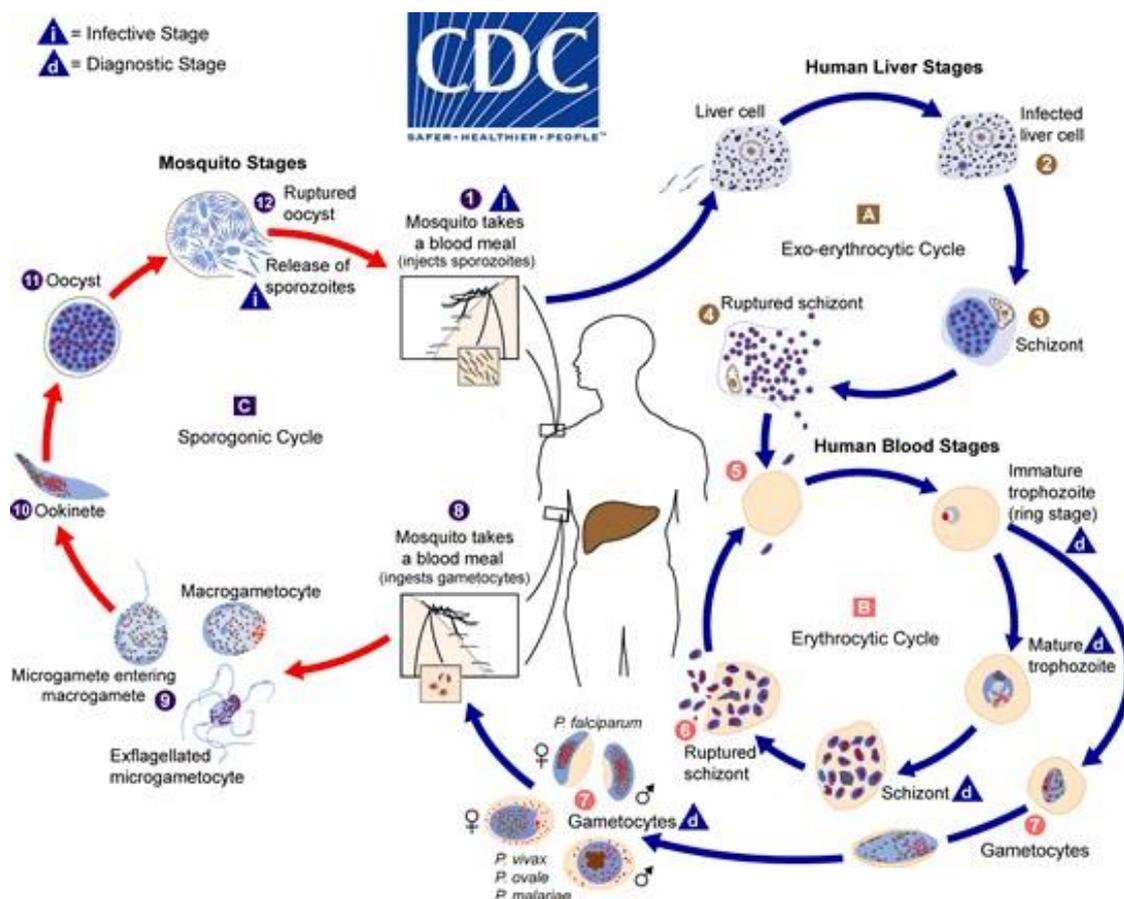
Posto isto, as principais espécies que parasitam o homem no Brasil, são o *Plasmodium falciparum*, que causa a febre terçã maligna, apresentando um acesso febril com intervalo de 36 a 48 horas e os casos podem ser fatais, e o *Plasmodium vivax* que causa febre terçã benigna, possuindo um ciclo febril a cada 48 horas. Menos comum, tem o *Plasmodium ovale* que causa a febre terçã benigna, exibindo um ciclo febril a cada 48 horas e o *Plasmodium malariae* que causa a febre quartã e possui um ciclo febril a cada 72 horas (SILVA, 2005).

Essas espécies são transmitidas aos humanos através da picada de fêmea de anofelino (mosquitos do gênero *Anopheles*) que está infectada com o *Plasmodium*, a qual normalmente vive em ambiente silvestre. Todavia, existem outras formas de transmissão que são pouco frequentes, como transfusão sanguínea, compartilhamento de seringas contaminadas, transplantes de órgãos e infecção congênita (CARVALHO, 2017).

Vale ressaltar que este parasita possui um ciclo de vida complexo, tanto na fase do hospedeiro invertebrado quanto do vertebrado. Tendo isso em vista, quando a fêmea faz o hematofagismo, ela injeta esporozoítos de *Plasmodium* na pele, os quais atingem a circulação periférica e migram para o fígado, infectando os hepatócitos. No entanto, algumas espécies, como o *Plasmodium vivax* e o *Plasmodium ovale*, possuem a capacidade de manter formas latentes do parasita no fígado, estes chamados de hipnozoítas. Em consequência, essas formas podem causar infecções subsequentes no sangue chamadas recidivas (MUELLER et al., 2009).

Assim, com os hepatócitos infectados, os esporozoítos vão sofrer esquizogonia, vão gerar esquizontes e destes, originarão merozoítos, os quais vão ser liberados na corrente sanguínea e vão infectar os glóbulos vermelhos (RBCs), caracterizando o ciclo hepático, como pode ser visto na figura 1 (MEIBALAN; MARTI, 2017).

Figura 1 – Ciclo de vida do parasita da malária.



Fonte: CDC (2020).

Desse modo, os merozoítos vão dar origem a trofozoítos jovens, que vão se nutrir de hemoglobina, açúcares, vitaminas e aminoácidos, até se transformarem em trofozoítos maduros. Esse trofozoíto maduro vai sofrer esquizogonia, dando origem primeiro a um esquizonte imaturo e depois a um maduro, que é formado por cerca de 20 merozoítos. Com a hemácia cheia de merozoítos, ela vai se romper, morrer e os merozoítos livres podem infectar novas hemácias e reiniciar o ciclo eritrocítico, ou dar origem aos gametócitos, que alcançam a derme, onde são capturados por outro mosquito (TUTEJA, 2007).

Sendo assim, quando outro mosquito realizar o repasto sanguíneo na pessoa infectada, ele vai ingerir as formas do parasito e após o desenvolvimento dos gametócitos, que dão origem aos microgametas e aos macrogametas, estes vão se fundir, vão dar origem ao oocineto, que vai dar origem ao oocisto e dentro do oocisto vai ocorrer a esporogonia. Com isso, se tem a formação de vários esporozoítos infecciosos e estes atingem as glândulas salivares para serem transmitidos a outro

hospedeiro, reiniciando o ciclo (MEIBALAN; MARTI, 2017).

Contudo, com a destruição dos eritrócitos e a liberação dos parasitos na circulação, é gerada uma resposta imunológica no hospedeiro, pois ao iniciar o ciclo eritrocitário, o plasmódio vai desencadear inúmeros processos inflamatórios e imunológicos decorrentes da ativação de macrófagos, linfócitos T, B e células natural killers (NK). Em consequência disso, várias citocinas serão liberadas por essas células, como a interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), interferon-gama (INF- $\gamma$ ) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) (TOSTA; SANTOSNETO, 1989).

Diante disso, se tem as respostas imunes agindo, como a imune inata e a imune adaptativa, tanto celular quanto humoral. Na resposta imune inata se tem uma participação importante dos neutrófilos e macrófagos, os quais vão fagocitar as hemácias parasitadas e os merozoítos. Já na resposta imune adaptativa, com o intuito de bloquear os plasmódios acelerando a destruição dos mesmos, vai ter a ativação de linfócitos T CD4+ principalmente do tipo Th1, que vão secretar IFN- $\gamma$ , ativando os macrófagos de perfil M1, e ainda, esses linfócitos ajudam os linfócitos B na produção de anticorpos e ajudam na ativação de linfócitos T CD8+, que são importantes para matar as células infectadas (MIOTO; GALHARDI; AMARANTE, 2012).

Destaca-se que durante a evolução dos parasitas da malária no interior das hemácias, eles se nutrem de hemoglobina, porém eles não podem degradar o subproduto do heme e o heme livre, pois eles são potencialmente tóxicos. Portanto, quando ele faz a degradação da hemoglobina, ele faz dentro de um vacúolo, onde a maior a maior parte do heme liberado é polimerizado em hemozoína (conhecido por pigmento malárico). Esse pigmento será fagocitado por macrófagos e isso induz uma maior liberação de citocinas, o que gera a febre e ainda, confere uma pigmentação escura aos órgãos, por exemplo, ao baço (TUTEJA, 2007).

Posto isto, ao longo da infecção pode ocorrer uma diminuição da produção de eritrócitos pela medula óssea, que pode estar associada a supressão da síntese de eritropoietina ou a maior liberação das citocinas descritas (DAMASCENO, 2013).

Além disso, o paciente com malária pode apresentar anemia hemolítica por conta da ruptura das hemácias parasitadas, determinando a hemólise intravascular (PINTO, 2019). No caso do *P. vivax*, a anemia é facilitada por conta da presença

glicoproteínas do sistema Duffy, conferindo suscetibilidade à infecção por essa espécie. Contudo, se for o indivíduo for Duffy negativo, terão uma resistência contra essa infecção (CASTRO, 2011).

Essa parasitose pode gerar várias consequências, como, alguns pacientes podem ficar no acesso malárico, ou seja, com calafrios, cefaleia intensa, calor e sudorese, sendo capazes de se curar espontaneamente ou necessitando de tratamento. Mas, outros, por ventura, evoluem para a malária grave, sendo essa associada a infecção por *Plasmodium falciparum* (DOLABELLA; BARBOSA, 2011).

Conforme Dolabella e Barbosa (2011), com a liberação de grandes quantidades de citocinas e com o sequestro de eritrócitos parasitados, que por sofrerem alterações na membrana (chamadas KnobS) se aderem a parede dos vasos sanguíneos, fazem com que haja uma cito aderência de hemácias. Isso pode levar à obstrução da microcirculação e à redução do fluxo de oxigênio, tendo uma anoxia dos tecidos, forçando as células a partir para uma glicólise anaeróbica, gerando uma acidose láctica. Então, com tudo isso, se tem as manifestações mais graves da malária, que são a insuficiência renal aguda, o edema pulmonar agudo, a malária cerebral, a hipoglicemia, a hemoglobinúria e icterícia.

Contudo, com um diagnóstico mais rápido e um tratamento correto, é possível reduzir a gravidade e a letalidade dessa doença (BRASIL, 2020).

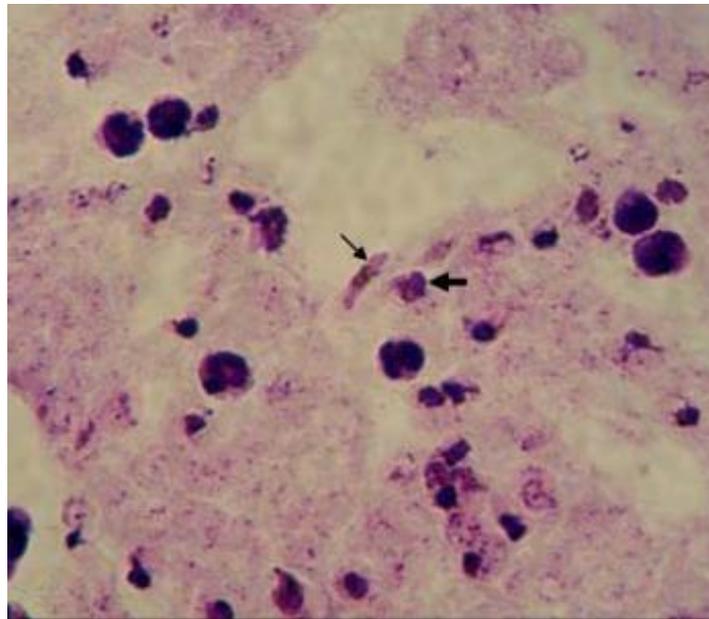
Conforme Brasil (2006), o diagnóstico da malária é pautado em três tipos, sendo o diagnóstico epidemiológico, o diagnóstico clínico e o diagnóstico laboratorial. O diagnóstico epidemiológico consiste em avaliar a área de procedência do caso, a existência de casos na região e o tempo de permanência na área endêmica. Já, o diagnóstico clínico baseia-se nas manifestações clínicas da doença associada com os achados epidemiológicos. Contudo, é o diagnóstico laboratorial que confirma a infecção.

Sendo assim, o diagnóstico laboratorial desta parasitose consiste, tradicionalmente, no exame microscópico do sangue, que pode ser feito em esfregaço delgado, também conhecido por gota estirada, ou ser feito em gota espessa, sendo este último, o método mais utilizado na prática, considerado como o “padrão ouro” (BRASIL, 2005).

A gota estirada permite uma melhor visualização da morfologia dos plasmódios

em altas parasitemias, pois em baixa parasitemia, sua sensibilidade é reduzida em comparação à gota espessa. Já a técnica de gota espessa, permite a visualização do parasito, além da identificação da espécie e o estágio de desenvolvimento e quantificação, que são parâmetros necessários para a confirmação clínica, como pode ser visualizado na figura 2 (BRASIL, 2006).

**Figura 2** – Lâmina de gota espessa desmembrada com azul de metileno, e corada com Giemsa (1.000x de aumento), utilizada na rotina de diagnóstico de malária. A infecção mista (*Plasmodium falciparum*/*Plasmodium vivax*) é evidenciada pela observação de gametócitos de *Plasmodium falciparum* (seta fina) e formas irregulares de *Plasmodium vivax* (seta grossa).



**Fonte:** Costa et al. (2008).

Por conta disso, para a realização destes exames, necessita-se especialmente de técnicos bem treinados, pois ele visa detectar e diferenciar as espécies de plasmódios (BRASIL, 2005).

No entanto, outros métodos alternativos e/ou complementares vêm sendo utilizados, como a imunofluorescência indireta, Elisa e a reação em cadeia da polimerase (PCR), de grande importância em pesquisa, como também outros especialmente nas regiões onde é difícil de realizar a microscopia, por exemplo, os testes rápidos de diagnóstico (TRD). Estes, utilizam o método imunocromatográfico e consistem na detecção de proteínas do *Plasmodium* nas amostras de sangue dos pacientes (SIQUEIRA et al., 2018).

Em vista disso, o tratamento da malária tem como objetivo atingir o parasito durante seu ciclo evolutivo, por exemplo, fazendo com que haja a interrupção da esquizogonia sanguínea (atividade esquizonticida), a erradicação de formas latentes (atividade hipnozoiticida) e a interrupção da transmissão do parasito (atividade gametocitocida). Portanto, diversas drogas são utilizadas para cumprir com esse objetivo, em que cada uma delas vai agir de forma específica, porém sempre necessitando de uma avaliação médica (BRASIL, 2010).

Segundo Brasil (2010), a indicação e o uso dos antimaláricos vai variar conforme a espécie de plasmódio infectante, idade do paciente, história de exposição anterior à infecção, condições associadas e a gravidade da doença. Mas, de modo geral, os principais medicamentos utilizados no Brasil são a Cloroquina, tendo ação contra *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae*, a Primaquina, tendo ação contra *P. vivax*, *P. ovale* e *P. falciparum*, e o Artemeter, o Artesunato e a Mefloquina com ação contra *P. falciparum*. Embora tenha essas variações de indicação e uso, é recomendável que as doses dos medicamentos utilizados sejam ajustadas ao peso do paciente, pois assim, evita a toxicidade durante tratamento.

Segundo FUNASA (2001), a cloroquina é um fármaco que pode ser classificado de acordo com sua característica química em 4-aminoquilonina, possuindo atividade esquizonticida para todas as espécies e gametocitocida para *P. vivax* e *P. malariae*. Porém, pouquíssimas cepas *P. falciparum* ainda são sensíveis à cloroquina. Além do mais, possui ação antipirética e anti-inflamatória. Contudo, possui uma estreita margem de segurança e se tiver seu uso prolongado ou uma superdosagem, pode ocasionar efeitos tóxicos graves, como, toxicidade cardiovascular, com hipotensão arterial, arritmia cardíaca e parada cardíaca irreversível, e uma dose única de 30 mg/kg pode ser fatal (FIOCRUZ, 2017).

Torres (2014), evidencia que a primaquina, apesar de ser eficiente no tratamento da malária, ela pode gerar efeitos adversos graves por conter metabólitos tóxicos, como a 5-hidroxiprimaquina e a 8-aminoquinolina, já que estes podem causar distúrbios gastrintestinais, anemia hemolítica, icterícia, leucopenia e desenvolvimento de meta-hemoglobinemia com cianose. Todavia, pela primaquina ser uma 8-aminoquinolina, ela vai possuir ação contra os gametócitos de todas as espécies de malária humana e também, contra hipnozoítos de *P. vivax* (FUNASA, 2001).

Já o artemeter e o artesunato, são derivados de artemisinina e são esquizonticidas potentes, que possuem ação rápida na eliminação do parasito e na melhora dos sintomas, em comparação com outros fármacos, como a cloroquina. Desta forma, devido a sua potente ação antimalárica e com o intuito de não ter uma diminuição rápida de sua eficácia, o uso é restrito ao tratamento da malária grave causada pelo *P. falciparum*, o qual pode apresentar multirresistência a outros fármacos (FUNASA, 2001).

A mefloquina, por sua vez, é classificada de acordo com sua característica química em 4-quinolinometanol, estando quimicamente relacionada com a quinina. Por conta disso, ela vai ser considerada como um potente esquizonticida, de ação prolongada contra o *P. falciparum* resistente às 4-aminoquinolinas, além de também possuir ação contra o *P. malariae* e contra os gametócitos de *P. vivax*. Entretanto, o seu uso deve ser bastante cauteloso, tendo em vista que possui uma alta capacidade de ligação a proteínas, principalmente as plasmáticas e a meia vida de eliminação no organismo de um adulto pode variar de 10 a 40 dias. Por conta disso, mesmo com níveis baixos de mefloquina no sangue, um indivíduo pode se infectar novamente e com isso, podem surgir cepas resistentes à droga. Além do mais, com uma superdosagem, pode se ter o desenvolvimento de doenças cardíacas e manifestações neuropsiquiátricas graves (FUNASA, 2001).

Diante do exposto, se tem a necessidade de medidas profiláticas para evitar a infecção por esse parasita e entre as principais estão uso de repelente, o uso de roupas e acessórios apropriados, uso de mosquiteiros impregnados ou não com inseticidas, telagem de portas e janelas das casas e melhoria das habitações (BRASIL, 2006). Também, é importante o combate ao vetor adulto através de inseticidas, eliminação de criadouros e o diagnóstico e tratamento dos casos.

Além do mais, outra medida profilática, mas que ainda vem sendo desenvolvida, é o programa de implementação da vacina contra malária em alguns países africanos. A partir de 2015, o grupo SAGE da OMS recomendou implementar a quarta dose da vacina RTS,S/AS01, a primeira vacina contra *Plasmodium falciparum*, também conhecida como Mosquirix, nas crianças menores de 5 anos, por serem consideradas a população que ainda é a mais atingida pelas formas graves da malária (CHAVES; MACHADO; VENTURA, 2015).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

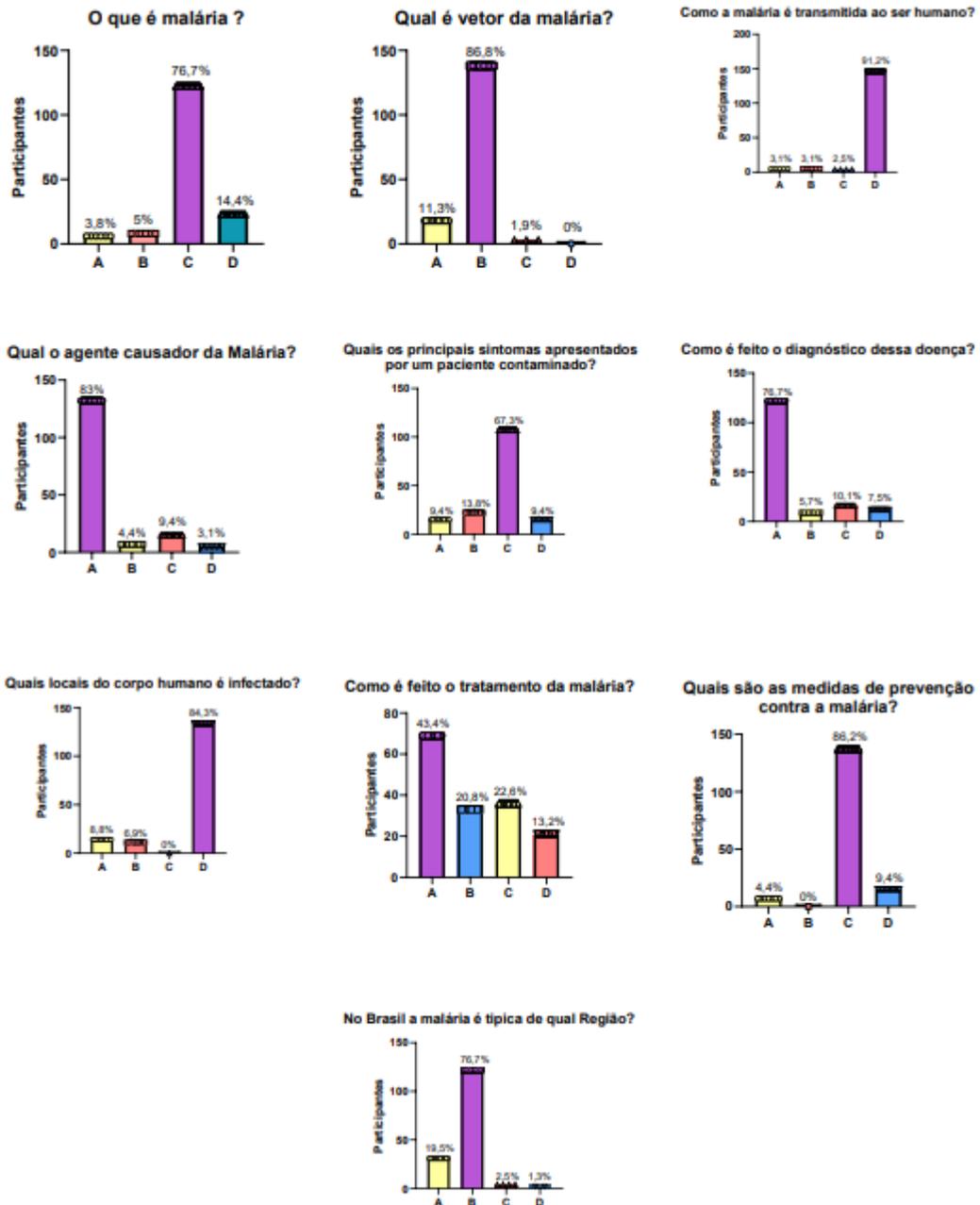
Com a coleta dos dados, foi verificado que um participante da pesquisa era menor de 18 anos. Por conta disso, esse participante foi automaticamente excluído, já que o mesmo entrava no critério de exclusão da pesquisa, que estava descrito no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) disponibilizado no formulário online.

Desta forma, a análise dos dados se baseou nas respostas de 158 participantes acima de 18 anos de idade e de várias localidades, onde foram feitos testes estatísticos, os quais geraram gráficos que serão discutidos ao decorrer deste tópico. Essas ferramentas estatísticas giraram em torno de testes não paramétricos, pois as amostras não foram correspondentes com o teste de normalidade.

Dos 158 participantes, 86 tinham idade entre 18 a 24 anos, 29 tinham idade entre 25 a 34 anos, 12 tinham idade entre 35 a 44 anos, 14 tinham idade entre 45 a 54 anos e 17 tinham mais de 55 anos. Além disso, destes, 132 participantes eram residentes do Paraná, 7 participantes eram residentes de São Paulo, 4 eram residentes do Rio de Janeiro, 2 eram da Bahia, 3 eram do Rio Grande do Sul, 2 eram do Distrito Federal, 1 era do Espírito Santo, 2 eram de Minas Gerais, 1 era do Acre, 1 era de Brasília, 1 era dos EUA, 1 era da França e 1 era do Japão.

De modo geral, a maioria das respostas correspondentes as perguntas 3, 4, 5, 6, 8, 9, 11 e 12 estavam corretas, como pode ser observado nos gráficos abaixo (figura 3).

**Figura 3** - Gráficos gerados a partir das respostas obtidas no questionário online, em que a cor roxa de cada gráfico representa a resposta correta para a pergunta e as cores amarelo, vermelho e azul correspondem as respostas incorretas, sendo possível visualizar a descrição das alternativas com as suas respectivas cores no apêndice B.



Fonte: Próprio autor (2022).

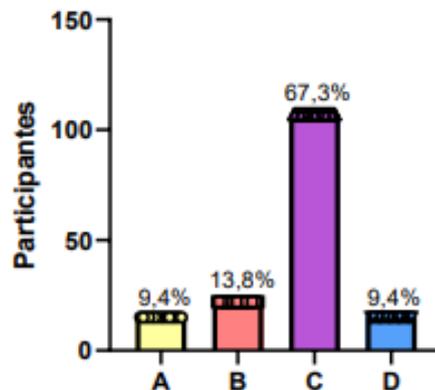
Porém, observa-se que algumas pessoas ainda não detêm tanta informação sobre a malária e isso, muitas vezes, favorece a expansão da doença, o que dificulta a erradicação da mesma. Por exemplo, com a não identificação de um indivíduo contaminado, por conta do não conhecimento sobre a doença e falta de acesso a serviços de saúde, este acaba sendo uma fonte de infecção para o mosquito vetor, o

qual vai acabar transmitindo para mais pessoas, reiniciando o ciclo da parasitose. Mas, outros fatores também estão associados, como, o afrouxamento de medidas de controle antes da erradicação da malária e a falha nas medidas preventivas individuais e coletivas.

Em relação a pergunta 7, que era sobre os principais sintomas durante a infecção, bastante pessoas mostraram não saber quais são estes, como podemos ver na figura 4.

**Figura 4** - Painel correspondente ao conhecimento direcionado aos sintomas da doença, onde A corresponde a vômitos, diarreia, desconforto abdominal e febre, B corresponde a inchaço do abdômen, febre irregular, anemia e falta de apetite, C corresponde a febre, dor de cabeça, calafrios, dores pelo corpo e suores intensos, e D corresponde a manchas avermelhadas espalhadas pelo corpo, febre, dor de cabeça e garganta, sendo que a letra C é a correta e 67,3% dos participantes da pesquisa acertaram a questão.

**Quais os principais sintomas apresentados por um paciente contaminado?**



Fonte: Próprio autor (2022).

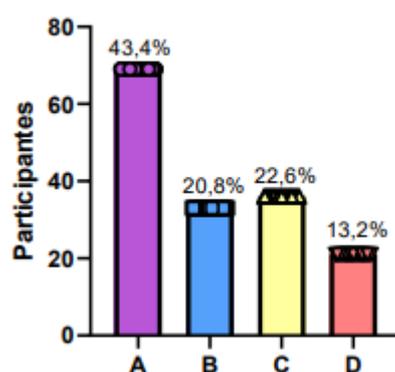
Ter o conhecimento sobre os sinais e sintomas de uma determinada doença, é essencial para que se tenha um bom prognóstico. No caso da malária, mesmo os sintomas não sendo tão específicos, como febre, dores de cabeça e pelo corpo, calafrios e suores intensos, com a assistência de um serviço de saúde, seria possível identificá-la e isso, seria vital para reduzir cada vez mais o número de casos desta doença. Desta forma, o desconhecimento sobre este assunto, pode fazer com se tenha a expansão da doença e a progressão para formas graves.

Entretanto, dentre as perguntas do questionário analisadas, a que mais apresentou respostas incorretas foi a pergunta 10, que era em relação ao tratamento

da malária, como pode ser observado na figura 5.

**Figura 5** - Painel correspondente ao conhecimento direcionado ao tratamento da doença, onde A corresponde com o uso de cloroquina, primaquina, artemeter, artesunato ou mefloquina, B corresponde com azitromicina associada à atovaquona, ou com quinina mais clindamicina, C corresponde com pirimetamina e sulfadiazina mais leucovorina, ou clindamicina ou atovaquona com pirimetamina, e D corresponde com ivermectina e paracetamol, sendo que a letra A é a correta e 43,4% dos participantes da pesquisa acertaram a questão.

**Como é feito o tratamento da malária?**



Fonte: Próprio autor (2022).

Esse resultado revela a defasagem de conhecimento da população sobre como é feito o tratamento dessa doença. No caso do Brasil, sabe-se que existe uma dificuldade para se ter acesso a informações científicas, que sejam, principalmente, de fácil entendimento, sobre esse e tantos outros assuntos, e isto, remete diretamente na falta de informação.

Um ponto importante a se ressaltar, é que, atualmente, as pessoas muitas vezes acabam fazendo a prática comum da automedicação, como uma forma de solução para alívio imediato de alguns sintomas, sem ao menos terem sido diagnosticadas ou terem a prescrição de medicamentos por um profissional da saúde qualificado. Por conta disso, essa prática pode gerar riscos, como reações alérgicas, intoxicação, resistência aos medicamentos e até morte, por uma falta de orientação e desconhecimento dos riscos.

Desta forma, sabendo que os sintomas da malária não são tão específicos da doença e que a população atualmente faz o uso de medicamentos por conta própria, surge a necessidade de evidenciar a toxicidade de alguns dos fármacos citados nas

alternativas da pergunta 10, como a azitromicina, quinina, clindamicina, ivermectina e paracetamol, para expor os riscos inerentes a essa prática, além da cloroquina, da primaquina, do artemeter, do artesunato e da mefloquina, que já foram abordadas no desenvolvimento deste trabalho.

Posto isto, a azitromicina, um antibiótico utilizado no tratamento de infecções causadas por bactérias sensíveis à azitromicina, pode fazer com que a pessoa desenvolva reações alérgicas graves como angioedema e anafilaxia, além de alteração da função hepática, hepatite, icterícia colestática, necrose hepática e insuficiência hepática, algumas das quais resultaram em morte (SANDOZ, 2018). No caso da quinina, um alcalóide com propriedades antitérmicas, antimaláricas e analgésicas, com uma única dose de mais que 3 g, pode se ter uma intoxicação grave e potencialmente fatal, pois ela leva a depressão do sistema nervoso central e convulsões, além de arritmias, hipotensão arterial e parada cardíaca, por conta da ação cardioprotóxica, como também, perturbações visuais (FUNASA, 2001). Já, a clindamicina, é um antibiótico semissintético derivado do grupo da lincosamina, que é tóxica e só é indicada quando a doxiciclina e a tetraciclina forem contraindicadas ou não estiverem disponíveis. Ela pode causar alguns sintomas gastrointestinais, como náusea, vômito e dores ou cólicas abdominais, mas também pode causar reações de hipersensibilidade, incluindo erupções cutâneas e urticária, e neutropenia e trombocitopenia (FUNASA, 2001). Já, a ivermectina, um medicamento que atua contra várias espécies de parasitas e vermes, pode levar a reações adversas leves e transitórias, como diarreia, náusea, falta de disposição, dor abdominal, falta de apetite, constipação e vômitos. Porém, com uma superdosagem pode se ter lesões cutâneas até urticária, inchaço, dor de cabeça, tontura, convulsões, alteração do equilíbrio, falta de ar e alterações na sensibilidade, além de lesões no fígado, que pode resultar na falência de parte dele (VITAMEDIC, 2018). Por fim, o paracetamol, um analgésico e antipirético, largamente disponível, é relativamente não tóxico em doses terapêuticas, mas, pode ser tóxico com uma superdosagem. O efeito tóxico agudo mais grave é a necrose hepática, que é potencialmente fatal e além disso, pode se ter alterações do SNC, depressão, estupor, hipotermia, prostração acentuada, respiração rápida, pulso rápido e irregular, hipotensão e falência circulatória, além de convulsão e coma, os quais geralmente precedem a morte (FIOCRUZ, 2006).

Diante disso, a automedicação deveria ser evitada, já que existem profissionais capacitados para realizar o diagnóstico e o tratamento correto das diversas doenças existentes, e, especialmente, no caso de malária, existe uma política nacional de tratamento do Ministério da Saúde, que orienta a população e disponibiliza os medicamentos antimaláricos em todo o território nacional através do Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 2010).

Perante o exposto, por meio dessas perguntas, foi percebido uma lacuna de conhecimentos. Então, para cumprir com os objetivos, foi produzido uma cartilha informativa (apêndice C) afim de preencher essa lacuna, com informações de fácil acesso e entendimento, em que a mesma será disponibilizada para uso por meio da secretaria de saúde.

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A malária é uma doença evitável e tratável, mas que ainda continua causando várias mortes a cada ano, principalmente devido as condições demográficas, ambientais e sociais dos diversos países pelo mundo, que são bastante favoráveis à manutenção do ciclo de transmissão. Por vezes, os sintomas apresentados pelas pessoas acometidas são leves e com isso, são difíceis de serem reconhecidos como malária. É importante salientar, que, se a forma leve da malária não for tratada, pode se tornar grave e dentre as várias complicações que podem surgir, as mais características são anemia grave, insuficiência renal e hepática, edema pulmonar e malária cerebral, a qual pode levar a morte. Portanto, se dá a necessidade de promover ações de controle da malária, com a adoção de diagnóstico precoce, acompanhamento adequado, tratamento imediato, manejo integrado de vetores na tentativa de reduzir ou interromper a transmissão da malária e uso de medidas profiláticas, a fim de diminuir a transmissão e a letalidade relacionada à esta parasitose.

Sendo assim, este estudo institui-se como uma importante ferramenta de conhecimento do desenvolvimento de produções acadêmicas a respeito das formas de transmissão da malária e seus sinais e sintomas, para ajudar no diagnóstico, além da importância do diagnóstico precoce para garantir o sucesso do tratamento, como também, para gerar dados sobre a desinformação populacional em relação a malária,

instigando pesquisas no mesmo sentido acerca de outras doenças.

## REFERÊNCIAS

ALISSON, Elton. **Brasileiro tem interesse, mas baixo nível de informação sobre ciência**. Agência FAPESP. 2015. Disponível em: <<https://agencia.fapesp.br/brasileiro-tem-interesse-mas-baixo-nivel-de-informacaosobre-ciencia/21503/>>. Acesso em: 05 dez. 2022.

ANVISA; FIOCRUZ. **Conheça a malária**. 2014. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/ioc/media/malaria%20folder.pdf>> Acesso em: 20 maio 2021.

BARROS, Ricardo Paes de; HENRIQUES, Ricardo; MENDONÇA, Rosane. Desigualdade e Pobreza no Brasil: retrato de uma estabilidade inaceitável. **Revista Brasileira de Ciências Sociais**, v. 15, n. 42, p. 123-142, 2000. Disponível em: <<https://www.tjam.jus.br/phocadownloadpap/desigualdadeepobrezanobrasil.pdf>>. Acesso em: 02 out. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Ações de controle da malária**: manual para profissionais de saúde na atenção básica / Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 52 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos). Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/acoes\\_controle\\_malaria\\_manual.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/acoes_controle_malaria_manual.pdf)>. Acesso em: 22 maio 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de tratamento da malária no Brasil**. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2020. 76 p: il. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_tratamento\\_malaria\\_brasil.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_tratamento_malaria_brasil.pdf)>; Acesso em: 22 maio 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia prático de tratamento da malária no Brasil**. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2010. 36 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos). Disponível em: <[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_pratico\\_malaria.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_pratico_malaria.pdf)>. Acesso em: 22 maio 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de diagnóstico laboratorial da malária**. Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 112 p. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos). Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/malaria\\_diag\\_manual\\_final.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/malaria_diag_manual_final.pdf)>. Acesso em: 22 maio 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Panorama epidemiológico da malária em 2021**: buscando o caminho para a eliminação da malária no Brasil. Malária: boletim epidemiológico, Brasília, v.53, n. 17, mai. 2022. Disponível em: <[383](https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-</a></p></div><div data-bbox=)

deconteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2022/boletimepidemiologic  
o-vol-53-no17.pdf>. Acesso em: 02 out. 2022.

CAMPELLO, Tereza et al. Faces da desigualdade no Brasil: um olhar sobre os que ficam para trás. **Saúde em Debate**, Rio de Janeiro, v. 42, n. especial 3, pp. 54-66, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0103-11042018S305>>.

CARVALHO, Melissa Fátima Vicente. **O paradigma da infecção por *Plasmodium falciparum* em mulheres grávidas seropositivas para HIV: a prevenção da transmissão vertical e a infecção congênita**. 2017. 89 f. Monografia (Especialização) - Curso de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2017. Disponível em: <[https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/36153/1/MICF\\_Melissa\\_Carvalho.pdf](https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/36153/1/MICF_Melissa_Carvalho.pdf)>. Acesso em: 20 maio 2021.

CASTRO, Fábio de. **Polimorfismo em antígeno de grupo sanguíneo afeta suscetibilidade à malária**. 2011. Agência FAPESP. Disponível em: <<https://agencia.fapesp.br/polimorfismo-em-antigeno-de-grupo-sanguineo-afetasuscetibilidade-a-malaria/14838/>>. Acesso em: 21 maio 2021.

CASTRO, Jorge Abrahão de. Evolução e desigualdade na educação brasileira. **Educ. Soc.**, Campinas, vol. 30, n. 108, p. 673-697, out. 2009. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/es/a/Py9jLMhddTWMfKQtY45L6dy/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 02 out. 2022.

CDC. **Malária**. 2020. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/>>. Acesso em: 05 dez. 2022.

CHAVES, Tânia do Socorro Souza; MACHADO, Ricardo Luiz Dantas; VENTURA, Ana Maria Revoredo. Vacina contra a malária. **Imunizações**, São Paulo, v. 8, n. 4, p. 12-18, dez. 2015. Publicação da Sociedade Brasileira de Imunizações. Disponível em: <<https://patua.iec.gov.br/bitstream/handle/iec/2159/Vacina%20contra%20a%20Malaria.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 22 maio 2021.

CHOLEWIŃSKI, Marcin; DERDA, Monika; HADAŚ, Edward. Parasitic diseases in humans transmitted by vectors. **Annals of Parasitology**. 2015. 61(3): 137-157. DOI: <https://doi.org/10.17420/ap6103.01>.

COSTA, Mônica Regina Farias et al. Diagnóstico molecular da malária em uma unidade de atenção terciária na Amazônia Brasileira. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** [online]. 2008, v. 41, n. 4, p. 381-385. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0037-86822008000400011>>. Acesso em: 05 dez. 2022.

DAMASCENO, Luana Santana. **Anemia na malária em adultos: uma revisão sistemática**. 79 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <[https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/28569/2/luana\\_damasceno\\_ipecc\\_mest\\_2013.pdf](https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/28569/2/luana_damasceno_ipecc_mest_2013.pdf)>. Acesso em: 21 maio 2021.

DOLABELLA, Silvio Santana; BARBOSA, Luciene. Aula 3: protozoários - filo apicomplexa. In: DOLABELLA, Silvio Santana. **Fundamentos de Parasitologia**. São Cristóvão: Universidade Federal de Sergipe, CESAD, 2011. p. 45-55. Disponível em: <[https://cesad.ufs.br/ORBI/public/uploadCatalogo/09493409052012Fundamentos\\_de\\_Parasitologia\\_Aula\\_3.pdf](https://cesad.ufs.br/ORBI/public/uploadCatalogo/09493409052012Fundamentos_de_Parasitologia_Aula_3.pdf)>. Acesso em: 21 maio 2021.

FREI, Fernando; JUNCANSEN, Camila; RIBEIRO-PAES, João Tadeu. Levantamento epidemiológico das parasitoses intestinais: viés analítico decorrente do tratamento profilático. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 12, p. 29192925, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2008001200021>.

FUNASA. **Manual de Terapêutica da Malária** / Colaboração de Agostinho Cruz Marques [et al]. Brasília: Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. 2001. 104 p. Disponível em: <[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/manu\\_terapeutica\\_malaria.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/manu_terapeutica_malaria.pdf)>. Acesso em: 02 out. 2022.

Fundação Oswaldo Cruz. **Farmanguinhos**: difosfato de cloroquina [DMG-FAR-PROCLO-000-2017]. Responsável técnico Carlos Araújo da Costa. Rio de Janeiro: Instituto de Tecnologia em Fármacos/Farmanguinhos; 2017. Disponível em: <<https://www.far.fiocruz.br/wpcontent/uploads/2017/02/Cloroquina-ProfSaude.pdf>>. Acesso em: 22 maio 2021.

Fundação Oswaldo Cruz. **Farmanguinhos**: paracetamol. 2006. Disponível em: <<http://www2.far.fiocruz.br/farmanguinhos/images/stories/phocadownload/paracetamol.pdf>>. Acesso em: 12 out. 2022.

MARIZ, Fabiana. Desmatamento modifica dinâmica de transmissão e impulsiona malária na Amazônia. **Jornal da Usp**. São Paulo. 04 jan. 2022. Disponível em: <<https://jornal.usp.br/?p=482092>>. Acesso em: 05 dez. 2022.

MEIBALAN, Elamaran; MARTI, Matthias. Biology of Malaria Transmission. **Cold Spring Harb Perspect Med**. 2017. 7(3): a025452. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025452>.

MIOTO, Leide Daiana; GALHARDI, Ligia Carla Faccin; AMARANTE, Marla Karine. Aspectos parasitológicos e imunológicos da malária. **Biosaúde**, Londrina, v. 14, n. 1, p. 42-55, 2012. Disponível em: <[http://www.uel.br/ccb/patologia/portal/pages/arquivos/Biosaude%20v%2014%202012/BS\\_v14\\_1\\_DEF\\_42.pdf](http://www.uel.br/ccb/patologia/portal/pages/arquivos/Biosaude%20v%2014%202012/BS_v14_1_DEF_42.pdf)>. Acesso em: 21 maio 2021.

MUELLER, Ivo et al. Key gaps in the knowledge of *Plasmodium vivax*, a neglected human malaria parasite. **The Lancet Infectious Diseases**. 2009. 9(9): 555-66. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(09\)70177-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(09)70177-X).

OPAS/OMS. **OMS pede ação revigorada para combater a malária**. 2020. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/noticias/30-11-2020-oms-pede-acaorevigorada-para-combater-malaria>>. Acesso em: 20 maio 2021.

PINHEIRO, Priscila de Nazaré Quaresma et al. **Aspectos Farmacológicos Do Antimalárico Lumefantrina**. Pará, abr. 2013. Disponível em:

<<http://files.bvs.br/upload/S/0101-5907/2013/v27n1/a3532.pdf>>. Acesso em: 02 out. 2022.

PINTO, Cristina Gonçalves. **Anemia hemolítica adquirida**: malária. 2019. Disponível em: <[http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/hematologia/serie\\_vermelha/outras\\_anemias/12.pdf](http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/hematologia/serie_vermelha/outras_anemias/12.pdf)>. Acesso em: 21 maio 2021.

SANDOZ. **Azitromicina**. Farm. Resp.: Cláudia Larissa S. Montanher. Cambé: Sandoz do Brasil Indústria Farmacêutica Ltda; 2018. Disponível em: <[https://img.drogasil.com.br/raiadrogasil\\_bula/Azitromicina500mgSandoz.pdf](https://img.drogasil.com.br/raiadrogasil_bula/Azitromicina500mgSandoz.pdf)>. Acesso em: 12 out. 2022.

SCHRAMM NETO, Fernando Antônio Ramos et al. Epidemiological profile of malaria notifications in Northeast Brazil, between 2015-2021. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, 2022. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i7.30091>.

SILVA, Mariama Tomaz Nogueira da. **Malária**. 2005. Instituto de Biociências, UNESP – Botucatu. Disponível em: <[https://www2.ibb.unesp.br/departamentos/Educacao/Trabalhos/obichoquemedeu/protozoario\\_malaria.htm](https://www2.ibb.unesp.br/departamentos/Educacao/Trabalhos/obichoquemedeu/protozoario_malaria.htm)>. Acesso em: 20 maio 2021.

SIQUEIRA, André et al. **Malária na Atenção Básica**. Belo Horizonte: Nescon/UFMG, 2018. 175 p.: il. Disponível em: <[https://www.nescon.medicina.ufmg.br/biblioteca/imagem/malaria-na-atencao-basica\\_EBOOK.pdf](https://www.nescon.medicina.ufmg.br/biblioteca/imagem/malaria-na-atencao-basica_EBOOK.pdf)>. Acesso em: 22 maio 2021.

SOUZA, Helen Paredes de et al. Doenças infecciosas e parasitárias no Brasil de 2010 a 2017: aspectos para vigilância em saúde. **Rev. Panamericana de Salud Pública**. 2020. DOI: <https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.10>.

TORRES, Liliane Henrique. **Caracterização físico-química e testes in vitro do antimalárico primaquina em ciclodextrina**. 102 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014. Disponível em: <[http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/3908/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O\\_Caracteriza%C3%A7%C3%A3o%20f%C3%ADsicoqu%C3%ADmica%20e%20testes%20in%20vitro%20do%20antimal%C3%A1rico%20primaquina%20em%20ciclodextrina.pdf](http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/3908/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Caracteriza%C3%A7%C3%A3o%20f%C3%ADsicoqu%C3%ADmica%20e%20testes%20in%20vitro%20do%20antimal%C3%A1rico%20primaquina%20em%20ciclodextrina.pdf)>. Acesso em: 22 maio 2021.

TOSTA, Carlos Eduardo; SANTOS-NETO, Leopoldo L.. Citocinas, integrinas e patogenia da malária. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 22, n. 4, p. 167-170, 1989. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0037-86821989000400001>.

TUTEJA, Renu. Malaria - an overview. **The FEBS Journal**. 2007. 274(18): 4670-9. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.05997.x>.

VITAMEDIC. **Ivermectina**. Farm. Resp.: Dra. Angelina Fernandes. Anápolis: Vitamedic Ind. Farmacêutica Ltda; 2018. Disponível em: <[https://img.drogasil.com.br/raiadrogasil\\_bula/IvermectinaVitamedic.pdf](https://img.drogasil.com.br/raiadrogasil_bula/IvermectinaVitamedic.pdf)>. Acesso em: 12 out. 2022.

## Desinformação populacional e a influência na efetividade do diagnóstico e tratamento da malária

Prezado(a) Senhor(a)

Gostaríamos de convidá-lo(a) para participar da pesquisa:

**Título** - Desinformação populacional e a influência na efetividade do diagnóstico e tratamento da malária.

**Local de realização** - Google Formulários – modo remoto.

**Horário** - Opcional.

tcc2022fernanda@gmail.com [Alternar conta](#)



\*Obrigatório

E-mail \*

Seu e-mail

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

#### JUSTIFICATIVA

Nos últimos anos, o crescimento populacional e urbano se deu de modo desordenado, contribuindo para o surgimento de vários problemas econômicos e socioculturais. Atrelado a isto, as condições precárias de habitação, como também o baixo índice de desenvolvimento humano e a falta de saneamento básico em muitas regiões, é uma das principais causas do aumento da malária a nível global. Devido a isso, as medidas profiláticas contra a malária se tornaram escassas. Portanto, a pesquisa tem por foco verificar se a desinformação populacional influencia nessa doença, visando também, expor as medidas profiláticas contra esse parasita.

#### OBJETIVOS

Demonstrar como a desinformação populacional influencia na doença causada pelo parasita em questão.

Identificar o nicho de desinformação das pessoas quanto à patogenia da doença.

Comparar os resultados da pesquisa via formulário com a quantidade de casos notificados em território nacional.

Desenvolver uma cartilha de informações científicas acerca da doença para envio ao Ministério da Saúde com o intuito de auxiliar no conhecimento da profilaxia.

## PROCEDIMENTO

Caso concorde em participar da pesquisa a ser realizada pelo curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia, será necessário registrar o aceite do participante ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de forma eletrônica, na plataforma Google Formulários. Depois que o participante tenha dado o seu consentimento, será disponibilizado um questionário online na mesma plataforma com 1 pergunta de resposta única acerca da idade do participante, 1 pergunta de resposta aberta sobre qual estado em que o participante reside e 10 perguntas de múltipla escolha sobre temas gerais da malária, por exemplo, o que é, como é transmitida, como é diagnosticada, quais os principais sintomas, como é feito o tratamento, totalizando 12 perguntas, que levam em torno de 15 minutos para serem respondidas.

## BENEFÍCIOS

Os benefícios deste estudo serão: 1) Desenvolver informações sobre as formas de transmissão da malária e seus sinais e sintomas, para ajudar no diagnóstico; 2) Observar a importância do diagnóstico precoce para garantir o sucesso do tratamento; 3) Produzir material científico acessível para ajudar na profilaxia doença; 4) Gerar dados sobre a desinformação populacional em relação a malária, para instigar pesquisas no mesmo sentido acerca de outras doenças.

## RISCOS

A pesquisa emprega questionário on-line, portanto, recorre ao ambiente virtual para a coleta de dados. O instrumento de pesquisa utiliza a plataforma GOOGLE FORMS, da empresa GOOGLE. A plataforma e a empresa têm uma boa reputação, mas a pesquisadora responsável não tem controle de como a empresa GOOGLE utiliza os dados que colhe dos participantes que respondem ao TCLE e ao questionário. A política de privacidade da empresa está disponível em <https://policies.google.com/privacy?hl=pt-BR>. Se o participante não se sentir seguro quanto às garantias da empresa GOOGLE quanto à proteção da sua privacidade, ele deve cessar a sua participação, sem nenhum prejuízo.

Não são utilizadas listas ou outro meio que permitam a identificação e/ou a visualização dos dados dos participantes pelos demais convidados ou por outras pessoas.

Na fase de realização do questionário online, mesmo com perguntas minimamente invasivas, pode ser causado constrangimento e por conta disso, se o participante se sentir constrangido, o mesmo pode desistir imediatamente da pesquisa.

Na fase de análise dos questionários há o risco de compartilhamento de dados. Para minimizar o risco, os pesquisadores assinaram o termo de confidencialidade e sigilo, que resguarda os dados analisados e conseqüentemente, os participantes envolvidos.

Caso possua perguntas sobre o estudo, os pesquisadores estarão dispostos para dar explicações a respeito e/ou fornecer literatura científica apropriada sobre o assunto. Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução nº. 510/2016 do Conselho Nacional de Saúde, além de obedecer ao OFÍCIO CIRCULAR Nº 2/2021/CONEP/SECNS/MS.

### CEP - COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Um CEP é um colegiado interdisciplinar e independente, de relevância pública, de caráter consultivo, deliberativo e educativo, criado para defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos.

### ASSISTÊNCIA

Em casos de intimidação, vergonha, constrangimento, invasão de privacidade e exposição, o participante poderá optar por não participar ou desistir imediatamente da pesquisa. Se o participante se sentir constrangido (a) de qualquer forma ou tenha alguma dúvida, os pesquisadores colocam-se à disposição, podendo entrar em contato por telefone ou e-mail, para sanar qualquer dúvida ou obter qualquer esclarecimento e assistência.

### OBRIGATORIEDADE

O participante poderá desistir de participar da pesquisa, retirando seu consentimento, a qualquer momento sem nenhum prejuízo. Nesse caso, os dados colhidos de sua participação até o momento da retirada do consentimento serão descartados, a menos que você autorize explicitamente o contrário. Além disso, o participante poderá não responder a qualquer pergunta do questionário e não precisará se justificar.

### CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Como critério de exclusão, será levado em consideração o aceite eletrônico do participante ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, caso o mesmo não o indique, automaticamente será excluído. Também, será levado em consideração sua faixa etária, em que menores de 18 anos de idade estarão automaticamente excluídos.

### SIGILO

As informações dos participantes como e-mail, idade, estado que reside e assinatura não serão invasivas e todos os dados fornecidos serão confidenciais onde apenas o aluno pesquisador e o orientador terão acesso, e essas informações não serão divulgadas em nenhum momento, ficando arquivadas por pelo menos 5 anos. Uma vez concluída a coleta de dados, será feito o download dos dados coletados para um dispositivo eletrônico pessoal, apagando todo e qualquer registro de qualquer plataforma virtual, ambiente compartilhado ou "nuvem".

### REMUNERAÇÃO

O participante não terá remuneração financeira, ou qualquer recompensa. A participação será voluntariamente com o objetivo de ajudar a pesquisa.

#### CONTATO

Caso tenha dúvidas ou necessite de esclarecimento, entrar em contato com a professora responsável pela pesquisa: Professora Anelise Franciosi (e-mail: [anelise.franciosi@unifil.br](mailto:anelise.franciosi@unifil.br)) e a aluna Fernanda Barbosa Costa (e-mail: [fernandabcosta80@edu.unifil.br](mailto:fernandabcosta80@edu.unifil.br)). Também poderá ser contato o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos UNIFIL – Londrina, situado junto no Campus Sede, UNIFIL – Avenida Juscelino Kubitschek, 1626, telefone 3375-7439, e-mail: [comitê.etica@unifil.br](mailto:comitê.etica@unifil.br).

*Eu, acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li \* ou que foram lidas para mim sobre a pesquisa Desinformação populacional e a influência na efetividade do diagnóstico e tratamento da malária descrita acima. Eu discuti com o pesquisador sobre a minha decisão em participar neste estudo. Ficando claro para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo. Recebi uma cópia deste termo.*

Eu aceito

#### DECLARAÇÃO DO PESQUISADOR

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária, o Consentimento Livre e Esclarecido deste participante para a colaboração neste estudo. Declaro ainda que me comprometo a cumprir todos os termos aqui descritos.

Próxima

Limpar formulário

## APÊNDICE B – SEGUNDA SESSÃO DO QUESTIONÁRIO ONLINE

### QUESTIONÁRIO

Qual sua idade? \*

- Menos de 18 anos
- Entre 18 a 24 anos
- Entre 25 a 34 anos
- Entre 35 a 44 anos
- Entre 45 a 54 anos
- Mais de 55 anos

Em qual estado você mora? \*

Sua resposta

---

O que é a malária? \*

- É uma infecção dos glóbulos vermelhos do sangue, causada pelo Babesia.
- É uma doença infecciosa provocada pelo parasita *Toxoplasma gondii*, que é transmitida aos seres humanos através das fezes de diversos animais contaminados pelo agente transmissor.
- É uma doença infecciosa febril aguda, causada pelo parasita do gênero *Plasmodium*.
- É uma doença infecciosa causada por protozoários do gênero *Leishmania*, que são transmitidos ao homem pela picada de insetos.

Qual é o vetor da malária? \*

- Insetos flebotomíneos, conhecidos popularmente como mosquito palha, tatuquiras ou birigui.
- Mosquitos fêmeas do gênero Anopheles
- Carrapatos pertencentes à família Ixodidae.
- Gatos domésticos.

Como a malária é transmitida ao ser humano? \*

- Pode ser transmitida aos humanos por meio de transfusão sanguínea, mas a principal forma é pela picada de um carrapato infectado.
- Sua transmissão ocorre quando a pessoa doente tosse, fala, espirra ou respira próximo de outras pessoas.
- A transmissão se dá através do contato com a saliva de um animal doente ou pela mordida.
- É transmitida através da picada da fêmea do mosquito Anopheles infectada, transfusão sanguínea, compartilhamento de seringas contaminadas, transplantes de órgãos e infecção congênita.

Qual o agente causador da malária? \*

- Protozoários do gênero Plasmodium.
- Protozoários Babesia.
- Protozoários do gênero Leishmania.
- Protozoários Toxoplasma gondii.

Quais os principais sintomas apresentados por um paciente contaminado? \*

- Vômitos, diarreia, desconforto abdominal e febre.
- Inchaço do abdômen, febre irregular, anemia e falta de apetite.
- Febre, dor de cabeça, calafrios, dores pelo corpo e suores intensos.
- Manchas avermelhadas espalhadas pelo corpo, febre, dor de cabeça e garganta.

Como é feito o diagnóstico dessa doença? \*

- É feito exame microscópico do sangue para detectar e diferenciar as espécies de plasmódios, mas também pode ser feito testes rápidos de diagnóstico, que utilizam o método imunocromatográfico e detectam proteínas do Plasmodium nas amostras de sangue dos pacientes.
- O diagnóstico é feito pela identificação de Babesia em uma amostra de sangue periférico, sorologia, ou reação em cadeia de polimerase (PCR).
- O diagnóstico é por sorologia, histopatologia ou PCR.
- O diagnóstico é feito pela demonstração de parasitas em amostras ou culturas e, cada vez mais, por ensaios baseados em PCR em centros de referência.

Quais locais do corpo humano é infectado? \*

- O estômago e o intestino.
- Somente as células do fígado e pâncreas.
- Somente rins e pulmão.
- Células do fígado e os glóbulos vermelhos do sangue.

Como é feito o tratamento da malária? \*

- Com o uso de cloroquina, primaquina, artemeter, artesunato ou mefloquina.
- É feito com azitromicina associada à atovaquona, ou com quinina mais clindamicina.
- Com pirimetamina e sulfadiazina mais leucovorina, ou clindamicina ou atovaquona com pirimetamina
- Com ivermectina e paracetamol.

Quais são as medidas para a prevenção contra a malária? \*

- Cobrir a boca ao tossir ou espirrar perto de outras pessoas, tomar vacina e realizar o diagnóstico e tratamento dos casos.
- Evitar florestas e locais onde proliferem carrapatos.
- Uso de repelente, de roupas e acessórios apropriados, de mosquiteiros impregnados ou não com inseticidas, telagem de portas e janelas das casas, combate ao vetor adulto através de inseticidas, eliminação de criadouros e o diagnóstico e tratamento dos casos.
- Vacinação pré ou pós exposição, e vacinação dos animais domésticos.

No Brasil, a malária é típica de qual região? \*

- Região Nordeste.
- Região Amazônica.
- Região Sudeste.
- Região Centro-Sul.

Voltar

Enviar

Limpar formulário

## APÊNDICE C – CARTILHA INFORMATIVA

# MALÁRIA

### O QUE É?

É UMA DOENÇA INFECCIOSA FEBRIL AGUDA PROVOCADA POR PROTOZOÁRIOS DO GÊNERO *Plasmodium*, QUE INFECTAM AS CELULAS DO SANGUE E DO FIGADO.

### FORMAS DE TRANSMISSÃO

PICADA DE FÊMEA DE MOSQUITO DO GÊNERO *Anopheles*, INFECTADA COM O *Plasmodium*.



### POUCO FREQUENTE:

- TRANSFUSÃO SANGUÍNEA;
- TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS;
- INFECCÃO CONGENITA;
- COMPARTILHAMENTO DE SERINGAS CONTAMINADAS. 3

### SINTOMAS



- FEBRE E TREMORES
- DORES PELO CORPO •
- DORES DE CABEÇA
- SUORES INTENSOS •

### TRATAMENTO

#### ANTIMALÁRICOS:

- CLOROQUINA: CONTRA *P. VIVAX*, *P. OVALE* E *P. MALARIAE*
- PRIMAQUINA: CONTRA *P. VIVAX*, *P. OVALE* E *P. FALCIPARUM*.
- ARTEMETER, ARTESUNATO E MEFLOQUINA: CONTRA *P. FALCIPARUM*. 2

### MEDIDAS DE PREVENÇÃO



- USO DE REPELENTE

- USO DE MOSQUITEIROS •



- TELAGEM DE PORTAS

- DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DOS CASOS •

### REGIÃO ENDÊMICA



#### REGIÃO A MAZÔNICA. 1

ACRE, AMAPÁ, AMAZONAS, MARANHÃO, MATO GROSSO, PARA, RONDÔNIA, RORAIMA E TOCANTINS.

**SE PERSISTIREM OS SINTOMAS, O MÉDICO DEVERÁ SER CONSULTADO.**

FERNANDA BARBOSA COSTA – ALUNA DO CURSO DE BIOMEDICINA DO CENTRO UNIVERSITÁRIO FILADELFA, LONDRINA/ PR.

### REFERÊNCIAS:

1. BRASIL. Ministério da Saúde. Ações de controle da malária: manual para profissionais de saúde na atenção básica / Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 52 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos). Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/acoes\\_controle\\_malaria\\_manual.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/acoes_controle_malaria_manual.pdf)>.
2. BRASIL. Ministério da Saúde. Guia prático de tratamento da malária no Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2010. 36 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos). Disponível em: <[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_pratico\\_malaria.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_pratico_malaria.pdf)>.
3. CARVALHO, Melissa Fátima Vicente. O paradigma da infecção por *Plasmodium falciparum* em mulheres grávidas seropositivas para HIV: a prevenção da transmissão vertical e a infecção congênita. 2017. 89 f. Monografia (Especialização) - Curso de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2017. Disponível em: <[https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/36153/1/M\\_ICF\\_Melissa\\_Carvalho.pdf](https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/36153/1/M_ICF_Melissa_Carvalho.pdf)>.

# **CÂNCER CERVICAL CAUSADO PELO PAPILOMAVÍRUS HUMANO: UMA REVISÃO DE LITERATURA SOBRE O IMPACTO GERADO PELAS VARIANTES 16 E 18 NO CENÁRIO BRASILEIRO**

CERVICAL CANCER CAUSED BY HUMAN PAPILOMA VIRUS: A LITERATURE  
REVIEW ABOUT THE IMPACT GENERATED BY THE VARIANTS 16 AND 18 AT  
THE BRAZILIAN SCENARY

Giovana Reis Portugal Pozatto<sup>1</sup>  
Anelise Franciosi<sup>2</sup>

396

## **RESUMO**

O câncer cervical uterino é a terceira neoplasia mais prevalente na população feminina, de ocorrência mundial, trata-se de uma enfermidade multifatorial cujo principal agente etiológico viral relacionado é o Papilomavirus humano (HPV). O objetivo deste trabalho é elaborar uma revisão de literatura sobre a ocorrência de câncer cervical uterino relacionado aos principais sorotipos com potencial oncogênico do vírus HPV no Brasil. Para isso foram utilizados artigos publicados em mídia científica digital por meio de plataformas online como Google Acadêmico, Scientific Electronic Library Online (SCIELO), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), PubMed, Organização Mundial da Saúde (OMS), e Instituto Nacional do Câncer (INCA), tais textos possuem data de publicação entre 1994 e 2022. O HPV é conhecido como um vírus de potencial oncogênico com tropismo para o trato genital e epitélio escamoso, sua principal forma de transmissão neste caso ocorre por via sexual. É recomendado, pela OMS, que as mulheres realizem o exame citopatológico preventivo como diagnóstico precoce desta enfermidade. Como uma das principais causas da mortalidade de mulheres pelo país, o câncer cervical possui alta relevância. Portanto, as instituições de saúde devem aumentar a disseminação de informação sobre o oferecimento do exame preventivo, pelo SUS, ampliar cada vez mais os protocolos já existentes da vacina contra o HPV e instruir a população sobre os riscos da relação sexual com ausência de métodos contraceptivos, como a camisinha.

**Palavras-Chaves:** Brasil. carcinogênese. colo uterino. HPV. neoplasia cervical.

## **ABSTRACT**

Uterine cervical cancer is the third most prevalent neoplasm in the female population, occurring worldwide, it is a multifactorial disease whose main viral etiological agent is the human papillomavirus (HPV). The objective of this project is to elaborate a literature review on the occurrence of uterine cervical cancer related to the main serotypes with oncogenic potential of the HPV virus in Brazil. Thereunto, were used articles published

<sup>1</sup> Graduanda do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil), Londrina/PR, Brasil. E-mail: giovanapozatto@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Orientadora e Docente Titular do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil), Londrina/PR, Brasil. E-mail: anelise.franciosi@unifil.br

in digital scientific media through online platforms such as Google Scholar, Scientific Electronic Library Online (SCIELO), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), PubMed, World Health Organization (WHO), e Instituto Nacional do Câncer (INCA), such texts have a publication date between 1994 and 2022. HPV is known as a virus with oncogenic potential with tropism for the genital tract and squamous epithelium, its main form of transmission in this case is sexual. It is recommended, by the WHO, that women perform the preventive Pap smear as an early diagnosis of this disease. As one of the main causes of mortality in women across the country, cervical cancer is highly relevant. Therefore, health institutions should increase the dissemination of information about the provision of preventive examinations by the SUS, increasingly expand existing protocols for the vaccine against HPV and educate the population about the risks of sexual intercourse without contraceptive methods, like condom.

**Keywords:** Brazil. carcinogenesis. cervical cancer. cervix. HPV.

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer de colo uterino, também conhecido como câncer cervical, é causado por uma infecção persistente de alguns subtipos oncogênicos do Papilomavírus Humano (HPV), sendo os mais relevantes: 8, 11, 16 e 18. Dentre estes, 8 e 11 apresentam baixo potencial oncogênico, já 16 e 18 são considerados de alto risco (“HPV e câncer do colo do útero - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde”, [s.d.]).

Há certa frequência na ocorrência de infecção genital por esse vírus e normalmente não há desenvolvimento da doença em si. Entretanto, existe a possibilidade de ocorrerem alterações celulares, as quais podem evoluir para o desenvolvimento do câncer. Tais alterações são visualizadas e facilmente identificadas ao ser realizado o exame citopatológico preventivo (popularmente chamado de Papanicolau). Portanto, assim como todos os cânceres, a detecção precoce é a chave para um tratamento efetivo e com maior chance de remissão (“HPV e câncer do colo do útero - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde”, [s.d.]).

A rotina recomendada para o rastreamento no Brasil determina a repetição do exame Papanicolau a cada três anos, após dois exames consecutivos sem alterações realizados com intervalo de aproximadamente um ano. A repetição em um ano após o primeiro teste possui o objetivo de reduzir a possibilidade de um resultado falso-negativo na primeira etapa do rastreamento. A periodicidade de três anos segue a

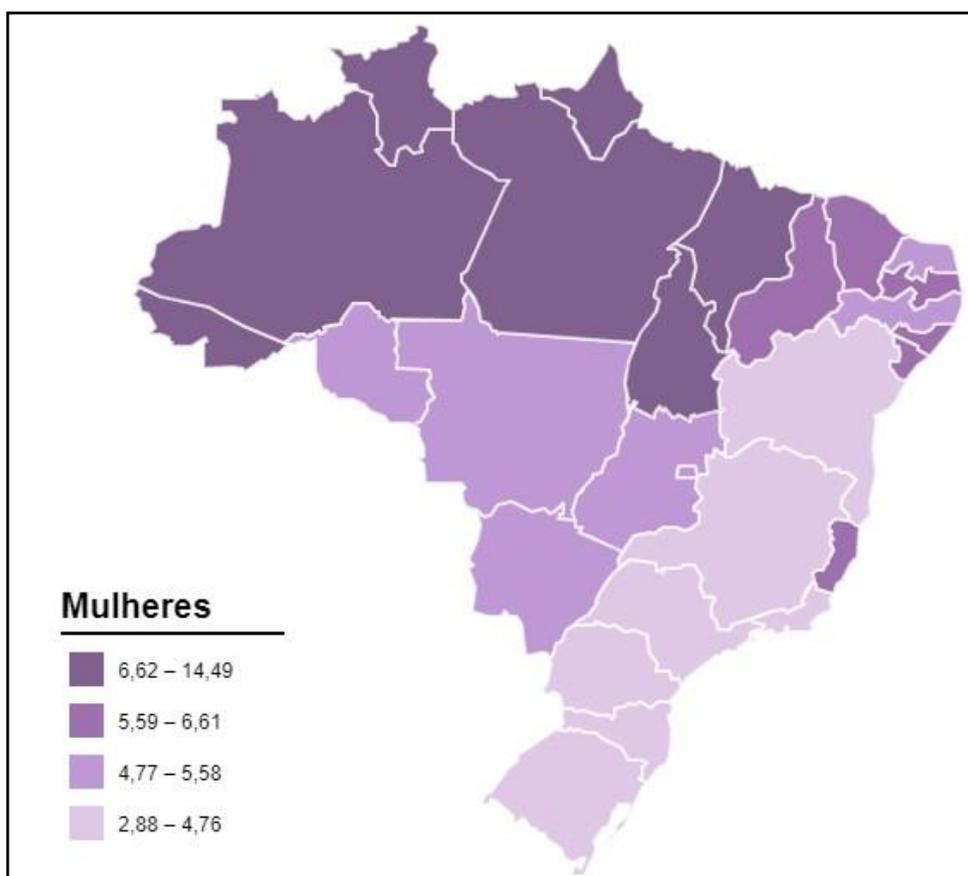
recomendação da OMS e as diretrizes de diversos países com seus respectivos programas de rastreamento organizado. Tais diretrizes foram adotadas devido à ausência de evidências que comprovassem a maior efetividade do rastreamento anual em comparação à realização do exame em intervalos de três anos (INCA, 2016).

O papilomavírus humano (HPV) é o principal agente etiológico deste tipo de câncer, pois após atingir o epitélio escamoso e gerar infecção, ocasiona também o surgimento de lesões cutâneas (majoritariamente na região anogenital do portador acometido pela infecção persistente). Existe uma grande variedade nos tipos de HPV identificados, um quantitativo que já chegou a 200 variações, dentre estes, 40 são responsáveis por atingir de maneira danosa o trato anogenital. A forma de transmissão mais comum ocorre através da relação sexual sem proteção, além disso é possível ocorrer contágio até mesmo no contato dos dedos com os órgãos genitais contaminados e posteriormente havendo a autoinoculação (CARVALHO et al., 2020).

Após o contágio pelo HPV, pode haver evolução para o câncer do colo do útero, e, dentre os 40 subtipos que atingem o trato anogenital, há 2 subtipos responsáveis por promover mais de 70% dos casos de cânceres cervicais, que são os tipos 16 e 18 (“HPV e câncer do colo do útero - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde”, [s.d.]).

Em 2020, a taxa de mortalidade na população mundial na região Norte foi de 9,52/100 mil mulheres, ocupando o primeiro lugar na causa de óbito feminino por câncer, nessa região. Nas regiões Nordeste, com taxa de mortalidade de 5,58/100 mil e Centro-Oeste, de 5,25/100 mil, o câncer cervical foi a terceira causa. As regiões Sul e Sudeste obtiveram as menores taxas (4,37/100 mil e 3,38/100 mil), ficando na quinta e sextas posições, respectivamente, conforme observado na figura 1 (INCA, 2022).

**Figura 1** - Representação espacial das taxas de mortalidade por câncer de colo do útero, ajustadas por idade pela população mundial, por 100.000 mulheres. Brasil e unidades da federação do Brasil, 2020.



Fonte: INCA (2022).

Os artigos relacionados à classificação do HPV, publicados em diversas plataformas (como a Biblioteca virtual em Saúde (BVS) e a Pubmed) e que fazem referências ao quantitativo de classificação têm tempo de publicação entre 5 e 10 anos, ou seja, pode-se considerá-los como desatualizados. Acredita-se que, bancos como do IRCHPV (Centro de Referencial Internacional do HPV) e GenBank são atualizados com maior frequência. Essa revisão de literatura tem como objetivo: descrever e especificar as características do Papilomavírus Humano, com enfoque dos subtipos 16 e 18, abordar os mecanismos que levam ao desenvolvimento da neoplasia cervical pelo HPV, além de destacar o impacto causado pelo HPV no cenário brasileiro, dentro dos dados fornecidos pelas organizações competentes, quanto à patologia em questão.

## 2 METODOLOGIA

O presente trabalho foi elaborado segundo o layout estabelecido para revisões de literatura de caráter descritivo e reflexivo. Para sua construção, foram utilizadas fontes atualizadas para pesquisas relacionadas à classificação do Papilomavírus humano. Comparam-se artigos que possuem data de publicação entre 1994 e 2022 para análises referentes à fisiopatologia do vírus e aos processos de desenvolvimento do processo cancerígeno em si, preconizando os mais atualizados, na medida do possível. O levantamento de informações foi feito por meio de periódicos científicos nacionais e internacionais; os quais foram obtidos por plataformas eletrônicas como: Google Acadêmico, World Health Organization (WHO), Scientific Eletronic Library Online (Scielo), National Center for Biotechnology Information (NCBI – PubMed), International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), Instituto Nacional de Câncer (INCA), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e Science Direct (Elsevier). Foi feita seleção, identificação e obtenção das informações que compõem este trabalho, e, posteriormente execução através da inclusão de 54 trabalhos sendo estes, condizentes com o tema analisado e estarem disponíveis na íntegra.

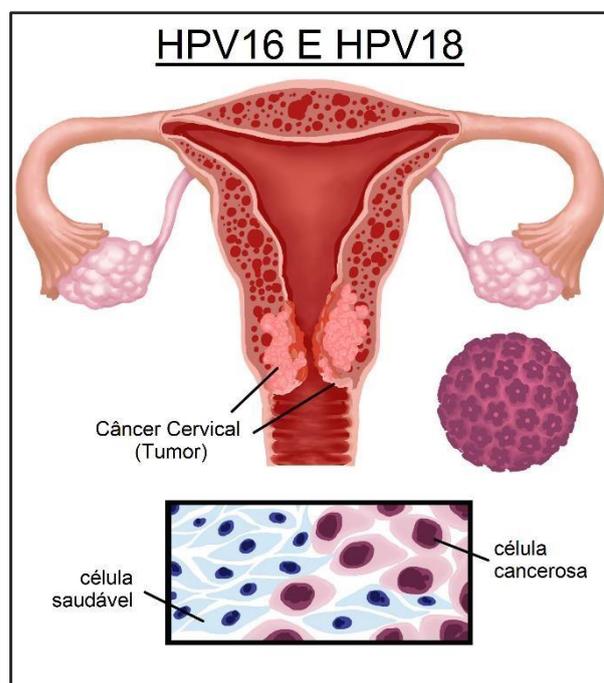
## 3 HPV E AS ESPECIFICIDADES DOS SUBTIPOS 16 E 18

Para que haja melhor entendimento sobre os diversos aspectos da natureza desse agente viral, deve-se ter conhecimentos sobre suas classificações, sua estrutura, sua organização genômica e as funções específicas de seus oncogenes.

São definidas 5 categorias (correspondentes aos gêneros) de HPV para humanos, cita-se: *Alphapapillomavirus*, *Betapapillomavirus*, *Gammapapillomavirus*, *Mupapillomavirus* e *Nupapillomavirus*. Os que infectam o trato genital foram abrangidos pelo gênero Alpha (BERNARD et al., 2010).

O Centro de Referencial Internacional do HPV (IRCHPV), apresenta informações descritivas do papilomavirus humano referente aos 5 gêneros, onde foram identificados 227 genótipos. Os vírus de interesse desse trabalho, popularmente conhecidos como “Papilomavírus Humano”, pertencem à família *Papillomaviridae*, subfamília *Firstpapillomavirinae*, gênero *Alphapapillomavirus* (“Taxon Details | ICTV”, [s.d.]).

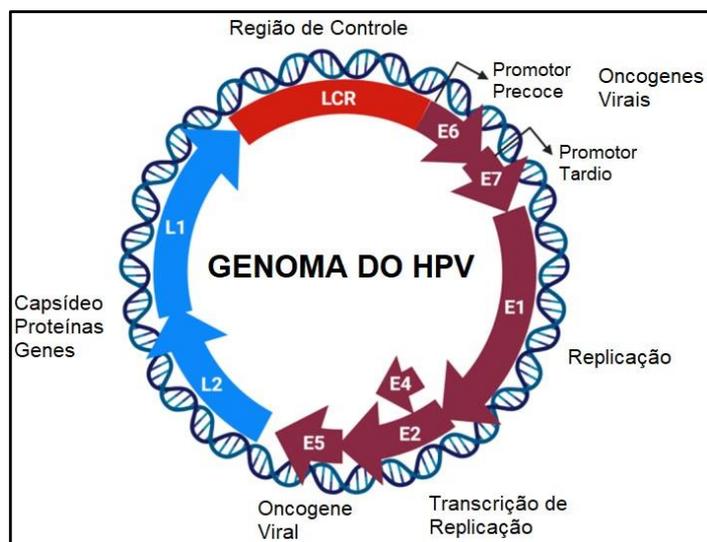
**Figura 2** - Human Papillomavirus (HPV) Strains 6 and 11 and Strains 16 and 18 (adaptada).



Fonte: Embryo Project Encyclopedia (2021-04-06)

Os Papilomavírus humanos não possuem envelope, apresentam simetria icosaédrica, com 72 capsômeros e um genoma de dsDNA (double strain DNA), composto por aproximadamente 8.000 pares de bases (8Kb). O genoma do HPV é dividido em três regiões, determinadas pela relação a sua localização e as suas características funcionais: duas regiões que são chamadas de precoces E (Early) e tardias L (Late) denominadas ORFs (open read frames ou “unidades de tradução”) e uma terceira região não codificante, a LCR (long control region) (LETO et al., 2011).

**Figura 3** - Organização genômica do Papilomavírus Humano (HPV).



**Fonte:** BLANCO, R. et al. Human Papillomavirus in Breast Carcinogenesis: A Passenger, a Cofactor, or a Causal Agent? *Biology*, v. 10, n. 8, p. 804, 20 ago. 2021. (traduzido)

Os vírus possuem oito genes: os precoces (E1, E2, E4, E5, E6 e E7) e os denominados tardios (L1 e L2). Tais genes são classificados de acordo com a sua manifestação no ciclo viral. E1 e E2 são responsáveis pela modulação da replicação e da transcrição. L1 e L2 estão relacionados aos fatores estruturais: formação do capsídeo. E5, E6 e E7 são moduladores do crescimento da célula e também de sua própria resposta imune. Estudos indicam que: em 99% dos casos de câncer cervical havia DNA do HPV associado, dados que se referem a tipos específicos do vírus (16 e 18). Ao serem realizadas análises do mRNA (RNA mensageiro) foram identificadas atividades destes vírus, com expressão predominante de E6 e E7, não só como indicadores da infecção, mas também como responsáveis pela progressão do câncer (COICOVEGA; OSORES; GAMBOA, 2018).

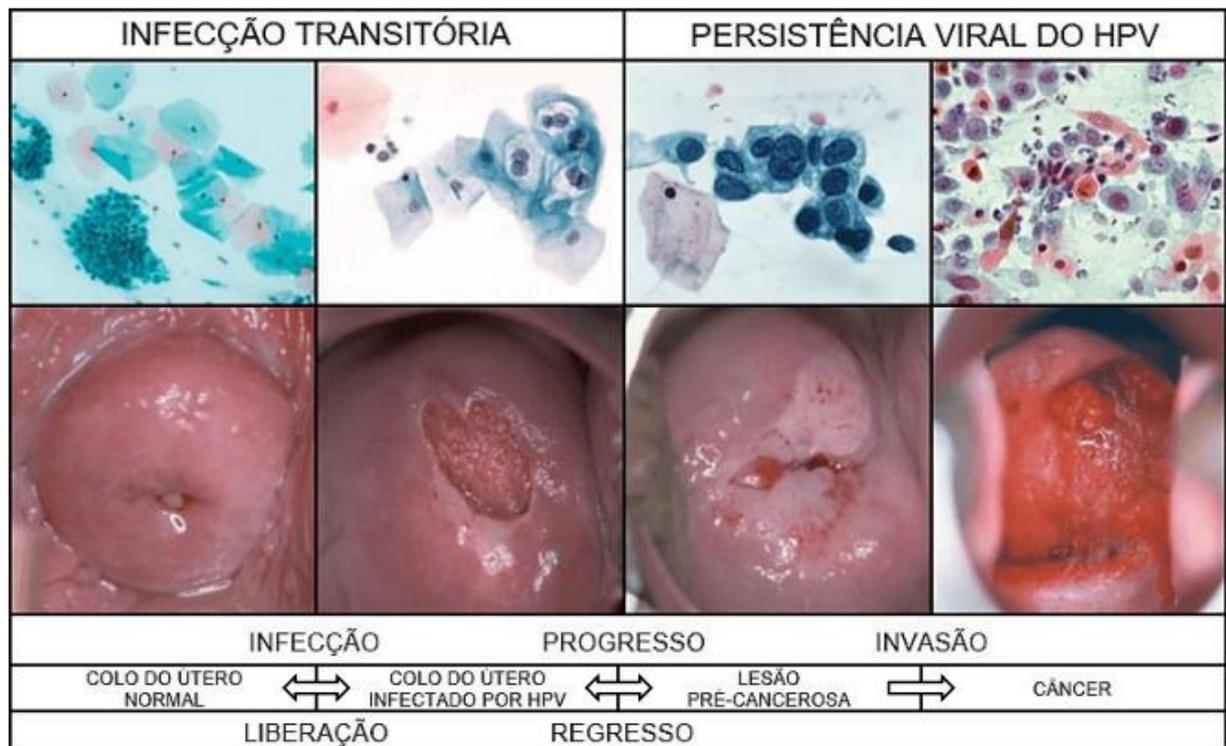
Os genes E6 e E7 possuem proteínas responsáveis por inativar a apoptose da célula hospedeira, p53 – E6 (p53 é um gene supressor tumoral, que codifica uma fosfoproteína nuclear que desempenha um papel importante no controle do ciclo celular, no reparo do DNA e na indução da apoptose) e por inibir o bloqueio do ciclo celular, pRB – E7 (codificada pelo gene RB1, a proteína RB desempenha papel importante no controle do ciclo celular, atuando como supressor tumoral além de estabilizar a cromatina), tais fatores fazem com que células infectadas pelo HPV não morram e se reproduzam de forma desordenada, o que levará ao processo de

oncogênese com alto grau de malignidade (WANG, 2018).

No gênero Alfacapilomavírus o Papilomavirus humano tem tropismo para o trato genital e poucas variedades são exclusivas para região da vulva. Este grupo é composto por tipos oncogênico de alto risco para tumoração cervical uterina, sendo o genótipo HPV16 e HPV18 pertencentes à espécie 9 e 7 (HAZARD, 2007).

Ainda não se sabe a completa descrição do mecanismo utilizado pelo vírus HPV adentrar a célula do hospedeiro. Acredita-se que acontece através de um processo de endocitose, realizado por vesículas que apresentam a proteína “clatrina” (proteína que trabalha em cooperação com o citoesqueleto para a deformação das membranas na formação dessas vesículas), tornando-se um processo lento, que dura cerca de seis horas. Ao atingir o interior da célula, o vírus HPV sofre desnudamento e viabiliza o transporte do DNA viral até o núcleo da célula. Este vírus possui a capacidade de identificar receptores intrínsecos existentes exclusivamente em células indiferenciadas. Além disso, o HPV ainda tem a habilidade de infectar células do epitélio colunar endocervical e ainda células metaplásicas existentes na junção escamo-colunar (SOUZA et al., 2015).

**Figura 4 -** Principais etapas do desenvolvimento do câncer do colo do útero.



**Fonte:** Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, et al. Human papillomavirus and cervical cancer. Lancet. 2007 (adaptada).

### 3.1 Fisiopatologia

Os Papilomavírus Humanos infectam células basais imaturas do epitélio escamoso em áreas de ruptura epitelial ou células escamosas metaplásicas imaturas pertencentes à junção escamo colunar, tais vírus não infectam as células superficiais escamosas maduras (as quais recobrem a ectocérvice, a vagina e a vulva). O estabelecimento efetivo da infecção por HPV nessas áreas requer lesão do epitélio superficial, tornando possível o acesso do vírus às células imaturas da camada basal do epitélio. O colo do útero, com suas grandes áreas de epitélio escamoso metaplásico imaturo, é particularmente vulnerável à infecção por HPV, quando comparado a outras estruturas e órgãos, que são recobertas por células escamosas maduras. A diferença na suscetibilidade epitelial à infecção por HPV explica a acentuada discrepância na incidência de cânceres relacionados ao HPV originados em diferentes locais (LETO et al., 2011).

Para completar o ciclo de vida infeccioso do vírus, a célula deve sofrer diferenciação terminal, pré-requisito para a montagem e liberação do virion. No entanto, em algumas infecções por papilomavírus de alto risco, Early 6 e Early 7 são tão eficazes no bloqueio de reguladores negativos do ciclo-celular que as células infectadas nunca amadurecem. As células permanecem ativamente envolvidas na progressão do ciclo celular e o processo de apoptose cessa. A instabilidade genômica resultante permite que as alterações genéticas se acumulem, conduzindo a uma transformação maligna de uma célula infectada com HPV em uma célula cancerosa invasiva (TOMMASINO et al., 2003).

Os genes Early 6 e Early 7 iniciam o processo de oncogênese por meio de interações com produtos de genes supressores de tumor (TP53 para Early E6 e proteínas de retinoblastoma para Early E7). TP53 tem um papel crucial na proteção da integridade genômica, forçando apoptose ou indução de parada do ciclo celular, até mesmo erros na replicação do DNA podem ser reparados. E6 visa TP53 para degradação via ubiquitina-proteossoma, prevenindo a apoptose e permitindo a replicação de células potencialmente transformadas (TOMMASINO et al., 2003).

O mecanismo de imortalização não se verifica nas infecções causadas pelos HPVs de baixo risco. Os genes E6 e E7 dos HPVs de alto risco são necessários juntos e numerosamente suficientes para imortalização de células epiteliais escamosas

primárias. Entretanto, as E6 e E7 codificadas pelos HPVs de baixo risco estão ou inativas ou fracamente ativas em uma mesma amostra. Os genes E6 e E7 estão indubitavelmente expressos em lesões malignas cervicais HPV positivas (FRANCIS; SCHMID; HOWLEY 2000).

As células normais do epitélio escamoso param de proliferar quando a diferenciação começa. Este é um problema com o HPV, que requer polimerases de DNA e fatores de transcrição que são produzidos apenas durante a divisão celular. Este problema é resolvido pela ação das oncoproteínas E6 e E7. Os genes E6 e E7 codificam proteínas que estimulam o crescimento e a transformação da célula hospedeira e atuam sinergicamente na imortalização celular. A oncoproteína E7 é uma pequena proteína fosforilada que se liga eficientemente à proteína do retinoblastoma (pRB) em sítios de ligação para fatores de transcrição, como membros da família E2F. Essa interação libera fatores de transcrição E2F do complexo repressor de transcrição pRB/E2F e estimula a proliferação celular. O E7 também pode imortalizar células ligando-se a outras proteínas envolvidas na proliferação celular e interferindo nos mecanismos apoptóticos. Complementa o papel do E7 corrigindo possíveis erros que essa oncoproteína pode se associar à proteína p53 por meio de outra proteína celular, a proteína associada a E6 (E6-AP). Este complexo então se liga à ubiquitina ligase E3, levando à ubiquitinação de p53 e subsequente proteólise. Outra via de inativação do p53 consiste no sequestro no citoplasma pela proteína viral E6. Esses efeitos abolem as propriedades do p53, destruindo sua capacidade de bloquear o ciclo celular e induzir a apoptose. E6 também auxilia na imortalização celular ativando a telomerase da célula hospedeira (NGUYEN; MÜNGER, 2009; DOORBAR et al., 2012; YUAN; FILIPPOVA; DUERKSEN-HUGHES, 2012).

O desenvolvimento das lesões cervicais requer a expressão e ação das proteínas oncogênicas do HPV. Mutações adicionais resultantes da instabilidade genômica induzida por oncoproteínas são necessárias para a progressão maligna. À medida que a carga viral aumenta, mais e mais proteínas são produzidas e acumuladas dentro da célula hospedeira. Quando os níveis intracelulares de E1 são altos, começam a se desenvolver defeitos de replicação, gerando um conjunto complexo de fragmentos do genoma viral que são ativamente alterados,

recombinados e degradados pela maquinaria celular do hospedeiro. Acredita-se que esses fragmentos subgenômicos assim gerados possam ameaçar a estabilidade do genoma viral e causar sua integração (HOWIE; KATZENELLENBOGEN; GALLOWAY, 2009; DOORBAR et al., 2012; YUAN; FILIPPOVA; DUERKSENHUGHES, 2012).

O desenvolvimento do câncer não depende apenas da baixa eficiência do controle do ciclo celular, que suporta o acúmulo de danos genéticos, mas também de técnicas sofisticadas de evasão imunológica que permitem que o vírus não seja detectado por longos períodos (PIERSMA, 2011). Não existe morte celular, necrose ou fase virêmica que desencadeie uma resposta inflamatória. Os antígenos virais são detectáveis apenas em células epiteliais superficiais destinadas à descamação e distantes da vigilância imunológica (FRAZER, 2009).

Os papilomavírus de alto risco desenvolveram vários mecanismos que minimizam o risco de detecção pelo sistema imunológico. O E6 de alto risco reduz a expressão superficial de CDH1 pelas células epiteliais, reduzindo sua capacidade de apresentar antígenos do papilomavírus humano (HUBERT et al., 2005).

Os receptores Toll-like ativam as células apresentadoras de antígenos como parte da resposta imune inata à infecção viral, mas a transcrição do receptor Toll-like 9 é inibida pela expressão de E6 e E7 de alto risco (HASAN et al., 2007). E7 reduz a expressão de TAP1 – um componente chave da via de processamento e apresentação de peptídeos – prevenindo a ativação de linfócitos T citotóxicos específicos (EINSTEIN et al., 2009). E6 e E7 de alto risco inibem a síntese de interferon por meio de interações específicas com IRF-1 e IRF-3 (RONCO et al., 1998; PARK et al., 2000).

Mudanças de sinais pró-inflamatórios para anti-inflamatórios, ou seja, o meio de citocinas, podem afetar a eliminação ou não de uma infecção. O papilomavírus humano de alto risco regula negativamente a expressão de citocinas próinflamatórias, incluindo o fator de necrose tumoral  $\alpha$ , enquanto as citocinas antiinflamatórias que previnem a migração de células imunes para o local da infecção, como por exemplo a IL-10, são reguladas positivamente (MOTA et al., 1999). As concentrações de peptídeos antimicrobianos, por exemplo SLPI e  $\beta$  defensinas humanas 2 e 3, são baixas no trato cervical-vaginal de mulheres com NIC (MHATRE et al., 2012).

A doença pré-invasiva que progride para o câncer acumula alterações

genéticas que auxiliam ainda mais na evasão imunológica. Esse processo é resultado da pressão contínua exercida sobre o tumor em desenvolvimento pelo sistema imunológico e é conhecido como imunoedição do câncer (DUNN et al., 2002). O tumor pode ter regulação negativa do MHC classe I e capacidade de processamento de antígeno prejudicada, insensibilidade e evitação da morte mediada por células T, aumento da infiltração de células T reguladoras imunossupressoras e produção de citocinas imunossupressoras (PIERSMA, 2011).

Apesar dessa impressionante variedade de mecanismos de evasão à imunidade do hospedeiro, a maioria das infecções por papilomavírus é eliminada em 12 meses. A imunidade mediada por células está implicada na eliminação viral através de várias linhas de evidência: (1) as verrugas que regredem naturalmente estão associadas a um influxo de linfócitos T (COLEMAN et al., 1994); (2) a imunodeficiência mediada por células, como a infecção pelo HIV, pode levar a lesões extensas induzidas pelo papilomavírus humano; e (3) um risco aumentado de doença progressiva (PALEFSKY; HOLLY, 2003; MOSCICKI et al., 2004) e respostas imunes específicas do papilomavírus humano foram detectadas nas lesões e no sangue periférico de pessoas com doença associada ao papilomavírus humano (ativa e em processo de remissão) (NAKAGAWA et al., 1997; DE JONG et al., 2002; WOO et al., 2010).

As respostas de anticorpos à principal proteína do capsídeo viral, L1, podem ser detectadas cerca de 6 meses após a infecção (CARTER et al., 2000) e ainda podem ser medidas até 5 anos depois, em indivíduos que eliminaram a infecção pelo papilomavírus humano (WANG et al., 2004). As respostas de anticorpos específicos do tipo L1 também foram detectadas em pessoas com doença persistente e câncer, embora cerca de 50% dos indivíduos nunca soroconvertam (CARTER et al., 2001). A presença de anticorpo L1 pode, portanto, representar infecção anterior ou persistente (EINSTEIN et al., 2006) e não está claro se as respostas de anticorpos específicos para L1 induzidas naturalmente protegem contra nova infecção.

Diversas variáveis diferentes afetam a medição dessas respostas imunes. Cada ensaio baseado em pesquisa que foi desenvolvido para detectar respostas ao papilomavírus humano anti-L1 mede coisas diferentes. Alguns medem epítomos imundominantes específicos, como por exemplo, imunoenaios Luminex, enquanto

outros medem IgG total, como o ELISA padrão (EINSTEIN et al., 2009).

A compreensão dos mecanismos imunológicos que sustentam a eliminação viral natural e a regressão da doença é necessária para informar o projeto de uma vacina terapêutica. As respostas de células T específicas para o papilomavírus humano foram detectadas medindo a proliferação, liberação de citocinas ou citotoxicidade após extensa estimulação *in-vitro* com peptídeos ou construções virais que expressam o antígeno do vírus do papiloma humano de interesse. É provável que as células T sejam efetoras importantes para a eliminação da doença estabelecida, mas a prevalência de células T específicas para o papilomavírus humano no sangue periférico de mulheres com lesões intraepiteliais é extremamente baixa como resultado da baixa carga de antígeno e da estrita compartimentação epitelial de doença pré-maligna (DE JONG et al., 2004).

De acordo com De Jong e colaboradores (2002), em um estudo longitudinal sem intervenção, de pacientes com evidência citológica de NIC de baixo grau relataram que as respostas de CD4+ T-helper 1, a E2 coincidem com a depuração viral. As respostas de CD4+ T-helper 1 contra E2 e E6 também foram detectadas em voluntários saudáveis, possivelmente como resultado de eliminação viral prévia (WELTERS et al., 2003). Fundamentalmente, tais respostas estão ausentes ou disfuncionais em pacientes com NIC de baixo grau, NIC de alto grau ou câncer (DE JONG et al., 2002; WELTERS et al., 2006; DE VOS VAN STEENWIJK et al., 2008). A regressão da doença está associada a respostas de células T citotóxicas CD8+ infiltrantes de lesão (fortemente positivas para granzimas) (DE JONG et al., 2002; PALEFSKY; HOLLY, 2003;), enquanto infiltrados de células T reguladoras, que mantêm um ambiente imunologicamente tolerante, ocorrem na doença persistente e progressiva (VAN DER BURG et al., 2007).

#### **4 CÂNCER CERVICAL E SUAS ESPECIFICIDADES**

O câncer de colo uterino é o segundo tipo de neoplasia que mais atinge o público feminino ao redor do mundo. Dada sua grande capacidade invasiva, tornou-se um inimigo para os portadores desse vírus que evoluiu para a doença em si. Pode-se afirmar que sua principal característica é o crescimento rápido e sem organização das células presentes no tecido do colo uterino (SOUSA et al., 2017).

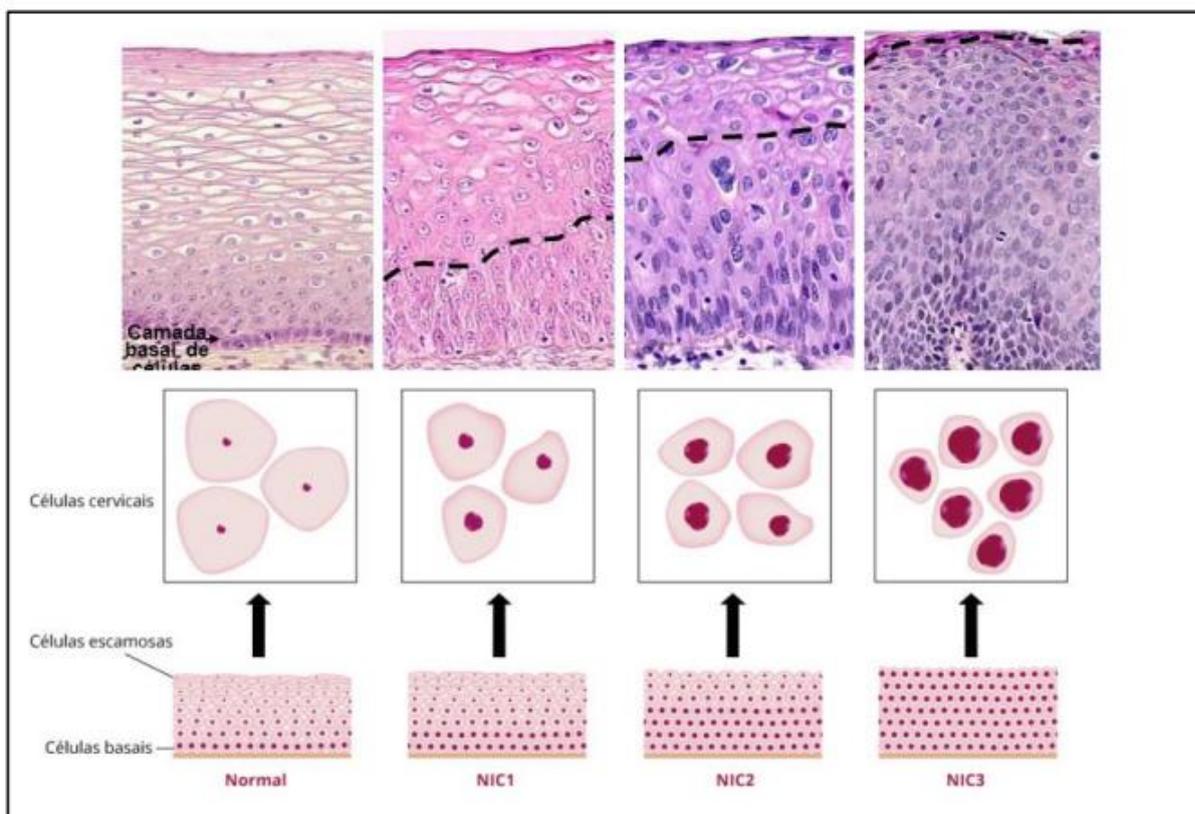
O crescimento de novos casos dessa doença é resultado de certos hábitos e práticas sexuais, além do uso de drogas nocivas. Como por exemplo, indivíduos que mantêm relações sexuais frequentes e sem uso de preservativo com mais de um parceiro, utilizam métodos contraceptivos via oral, tiveram início precoce da vida sexual, contraíram infecções de caráter sexual e/ou são tabagistas. Entretanto, o fator principal para o desenvolvimento do câncer cervical é a contração do vírus HPV, o qual pode ser transmitido por meio do sexo, da mãe para o bebê durante a vida intrauterina, no momento do parto ou, até mesmo, pela amamentação (VIMAR; BRAGA; VIANNA, 2020).

Quanto à faixa etária, esse câncer possui maior incidência entre 20 e 30 anos, e as pessoas que estão classificadas como grupo de risco são aquelas entre as idades 45 e 50 anos (SOUSA et al., 2017). O alto índice dessa doença é global e os índices de mortalidade são maiores em países subdesenvolvidos. Em virtude do longo período de espera para que haja o recebimento de um diagnóstico e a dificuldade no acesso ao tratamento indicado, os números continuam aumentando gradativamente (PEREIRA et al., 2019).

O nível de acometimento do câncer cervical é dependente do estado dos linfonodos do paciente e da sua quantidade. Essa doença se agrava gradativamente no organismo humano e segue estágios, utilizados para classificar sua gravidade (FIGO, 2018). Na cito-histopatologia, as lesões cervicais precursoras são enquadradas em uma classificação referente ao grau de evolução da neoplasia intraepitelial cervical (NIC). A NIC é vista como fase pré-invasiva e é qualificada em graus I, II e III, os quais dependem da proporção da grossura do epitélio que contém as células maduras e que já sofreram o processo de diferenciação. Os graus II e III, são mais graves, pois exibem maior espessura na proporção do epitélio, constituído por células indiferenciadas, a qual possui mais chances de progredir para o câncer.

Sendo assim, considerados seus reais precursores (TSUCHIYA et al., 2017).

**Figura 5** - Achados de citologia confirmados por histologia + Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC).



**Fonte:** Frappart, et al. Histopathology and Cytopathology of the Uterine Cervix. Digital Atlas, Lyon, France: IARC Press, 2004; Kasvi, 2017.

No início, o câncer de colo uterino possui característica assintomática, pois não gera sintomas e a região vaginal permanece com características inalteradas. Para o diagnóstico nesse estágio, faz-se necessária a realização do exame citopatológico conhecido popularmente como Papanicolau (SIMÕES; ZANISSO JUNIOR, 2019).

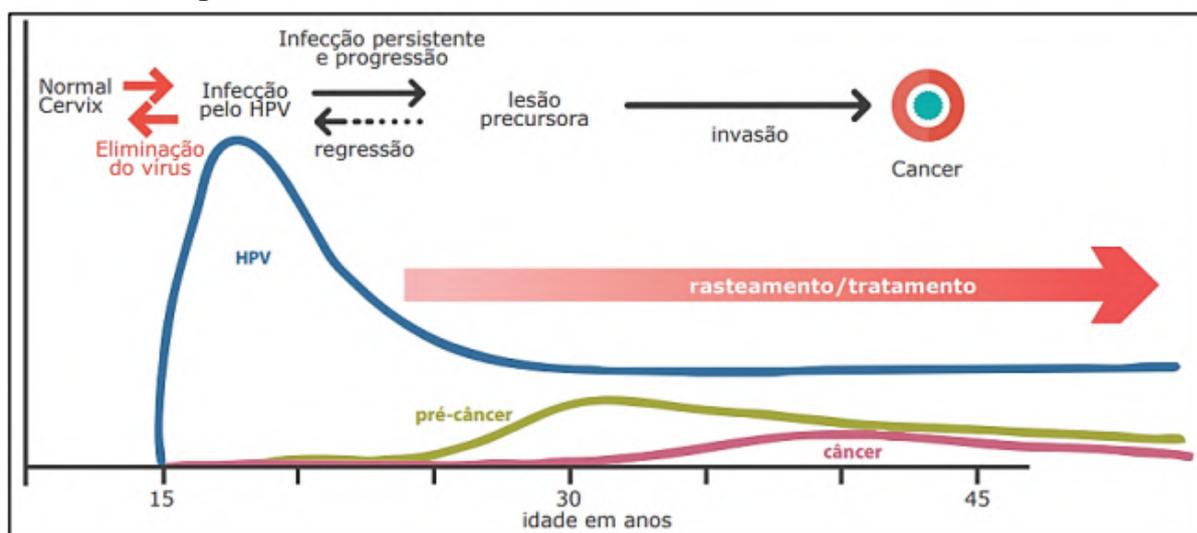
Os sinais e sintomas do câncer cervical em estágio inicial são mínimos e normalmente não preocupam as mulheres que os exibem. Mas, quando os sinais nítidos começam a aparecer, a neoplasia já conseguiu atingir estruturas e órgãos próximos. Primordialmente, a sintomatologia básica consiste em sangramentos em períodos não menstruais (sangramentos “de escape”), e, durante o período menstrual, há prolongamento do período de sangramento, incômodo após a relação sexual, aumento do volume de líquido secretado pela vagina (CASARIN; PICCOLI, 2011).

Outro aspecto a se levar em conta é o fato de existirem mais de 100 tipos de HPV, os quais desencadeiam sinais e sintomas diferentes entre si, como verrugas na região genital, por mais que estas em específico sejam classificadas como benignas

(PANCERA et al., 2018).

O principal método para a detecção precoce do câncer cervical é o rastreamento. Ele torna possível a identificação de lesões precursoras que podem ser detectadas e tratadas adequadamente, impedindo sua progressão para o câncer. O método atual de rastreamento do câncer do colo do útero no Brasil é o exame citopatológico, que deve ser oferecido às mulheres que possuem de 25 a 64 anos, e já possuem via sexual ativa. Mulheres nessa faixa etária são a população-alvo do rastreamento pois durante esse intervalo de idade ocorre a maior incidência de lesões com grau elevado (INCA, 2016), conforme ilustrado na Figura 3.

**Figura 6 - Idade e história natural do câncer do colo do útero.**



Fonte: Lowy; Schiller (2006).

Pode-se observar que o pico da infecção pelo HPV (linha azul) ocorre ao redor dos 15 a 20 anos, entretanto, as lesões antecessoras ao câncer têm o pico na faixa dos 30 anos, já a incidência do câncer cervical possui aumento de casos nas mulheres com mais de 35 anos e atinge seu ápice ao redor dos 50 a 60 anos de idade.

Portanto, conclui-se que, antes dos 25 anos, há prevalência de infecções por HPV e lesões de grau baixo, as quais regredirão naturalmente (na maioria dos casos), ou lesões de grau alto, apresentando alta taxa de regressão espontânea por esse grupo (INCA, 2016).

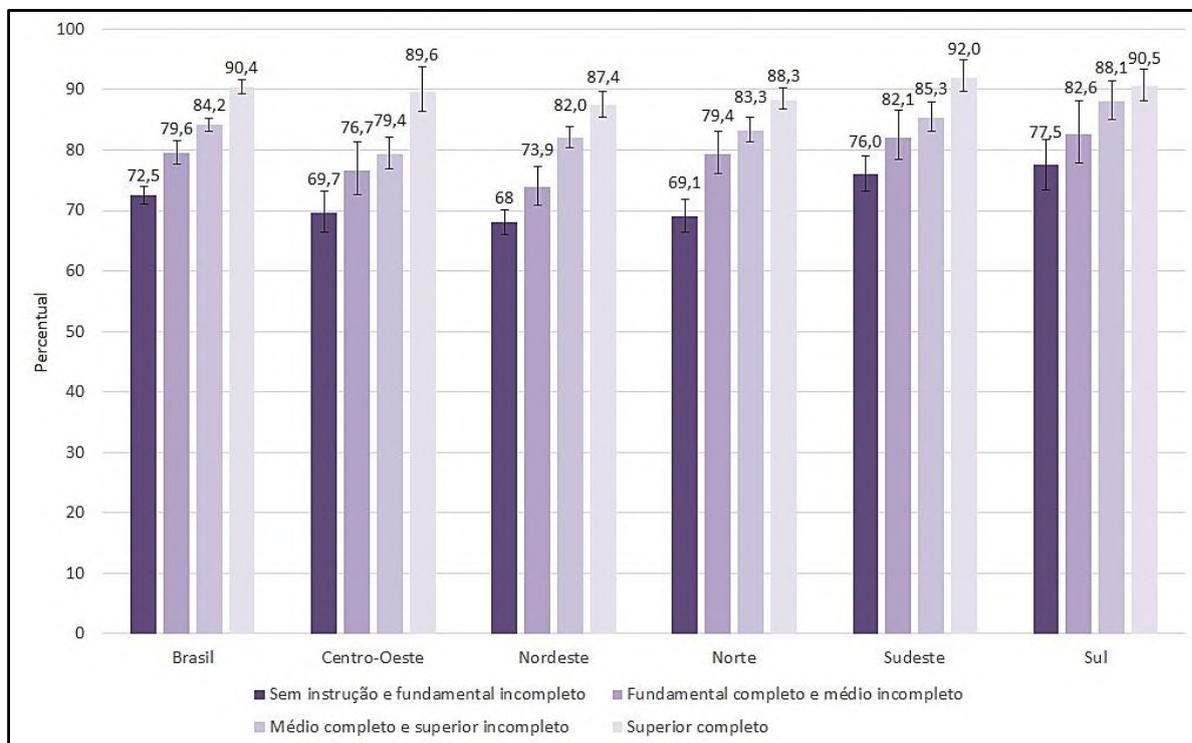
## 5 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS BRASILEIROS

A estimativa realizada no ano de 2020, pelo INCA, mostrou que era esperado que o número de casos novos de câncer cervical no Brasil, para cada ano do triênio 2020-2022, seria de 16.590, com um risco de aproximadamente 15,43/100mil mulheres.

A extensão do rastreamento no Brasil é estimada por pesquisas em nível nacional, por exemplo, a Pesquisa Nacional de Saúde (PNS), a qual se baseia em amostras que representam o país inteiro, e o Vigitel Brasil, investigação via telefone realizada anualmente, mas é restrita às capitais estaduais e ao Distrito Federal. As duas pesquisas consideram a população feminina brasileira em sua totalidade, não somente mulheres que utilizam do SUS como órgão realizador de exames e consultas médicas (“Cobertura do rastreamento em inquéritos nacionais”, [s.d.]).

O Vigitel demonstrou que o alcance do exame citopatológico cervical nas capitais é alta e mantém-se perto de 80% nessa década passada. Em 2020 e 2021, houve diminuição na realização desses exames, pode-se associar esse fato como resultado dos anos atípicos em decorrência da pandemia do SARS-CoV-2 (“VIGILÂNCIA DE FATORES DE RISCO E PROTEÇÃO PARA DOENÇAS CRÔNICAS POR INQUÉRITO TELEFÔNICO ESTIMATIVAS SOBRE FREQUÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO SOCIODEMOGRÁFICA DE FATORES DE RISCO E PROTEÇÃO PARA DOENÇAS CRÔNICAS NAS CAPITAIS DOS 26 ESTADOS BRASILEIROS E NO DISTRITO FEDERAL EM 2019”, [s.d.]).

**Figura 7** - Proporção de mulheres de 25 a 64 anos de idade que realizaram o exame preventivo para câncer de colo de útero nos últimos 3 anos anteriores à pesquisa, por nível de instrução, Brasil e Regiões, 2019.



**Fonte:** IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Trabalho e Rendimento, Pesquisa Nacional de Saúde (2019).

A taxa de mortalidade por câncer cervical no Brasil (ajustada pela população mundial) foi 4,60 óbitos/100 mil mulheres, em 2020 (INCA, 2020). Na mortalidade proporcional por câncer em mulheres, em 2020, os óbitos por câncer do colo do útero ocupam o terceiro lugar no país, representando 6,1% do total.

A prevenção primária do câncer do colo do útero está relacionada à redução do risco de infecção pelo papilomavírus humano (HPV). A infecção pelo HPV é transmitida sexualmente, presumivelmente através de abrasões microscópicas na mucosa ou na pele da região anogenital. Conseqüentemente, o uso do preservativo durante o sexo com penetração protege parcialmente contra a infecção pelo HPV, que também pode ocorrer pelo contato com a pele da vulva, períneo, região perianal e escroto (“Prevenção do câncer do colo do útero”, [s.d.]).

A principal forma de tratamento, porém, é a prevenção: vacina contra o HPV. Em 2014, o Ministério da Saúde incluiu a vacina quadrivalente contra o HPV para meninas e em 2017 para meninos. Esta vacina protege contra os subtipos mais

frequentes e nocivos do HPV (6, 11, 16 e 18). Os dois primeiros causam verrugas genitais e os dois últimos são responsáveis por cerca de 70% dos casos de câncer do colo do útero (“Prevenção do câncer do colo do útero”, [s.d.]).

A faixa etária alvo para vacinados são meninas de 9 a 14 anos e meninos de 11 a 14 anos, pois esta vacina é mais eficaz quando utilizada antes do início da vida sexual. Duas doses devem ser tomadas com seis meses de intervalo. Grupos especiais, como pessoas com imunodeficiência causada pelo HIV, devem seguir orientações específicas (“Prevenção do câncer do colo do útero”, [s.d.]).

Para mulheres imunossuprimidas vivendo com HIV/AIDS, transplantadas e pacientes com câncer, a vacinação é recomendada até os 45 anos (“Prevenção do câncer do colo do útero”, [s.d.]).

O tratamento adequado das lesões precursoras (lesões intraepiteliais escamosas de alto grau na citologia, neoplasia intraepitelial cervical 2 e 3 na histologia e adenocarcinoma in situ) é uma prioridade para reduzir a incidência e mortalidade do câncer do colo do útero cirúrgica (“Tratamento”, [s.d.]).

As diretrizes brasileiras para a detecção precoce do câncer do colo do útero recomendam o tratamento de excisão de lesões intraepiteliais escamosas de alto grau por remoção da zona de transformação (ETZ) por eletrocirurgia após confirmação colposcópica ou histológica (BRASIL, 2016).

Se a colposcopia for satisfatória, com achado anormal compatível com a citologia e limitado à ectocérvice ou ao primeiro centímetro do canal endocervical, o procedimento deve ser realizado ambulatorialmente, a nível da atenção secundária, que permite o tratamento imediato das lesões – prática denominada “Ver e Tratar” (KATTUKARAN et al., 2002). O objetivo desta estratégia é dar às mulheres acesso a facilitando o tratamento, reduzindo a ansiedade, a perda de acompanhamento e o custo do atendimento (SADAN et al., 2007).

Em caso de colposcopia insatisfatória ou quando a lesão ultrapassa o primeiro centímetro do canal, o tratamento indicado é a conização, preferencialmente realizada com técnica eletro cirúrgica (“Tratamento”, [s.d.]).

O tratamento do câncer do colo do útero, conforme estabelecido pela Política Nacional de Prevenção e Controle do Câncer, deve ser realizada nas Unidades de Atendimento de Alta Complexidade em Oncologia (Unacon) e nos Centros de

Atendimento de Alta Complexidade em Oncologia (Cacon), que fazem parte da são hospitais terciários. Este nível de atenção deve ser capaz de determinar a extensão da neoplasia (estadiamento), tratar, cuidar e garantir a qualidade do atendimento oncológico (“Tratamento”, [s.d.]).

A avaliação do Unacons e Cacons é atualizada regularmente de acordo com as necessidades e Indicação de condições com base em normas e parâmetros publicados na Portaria SAES/MS nº 1.399, de 17 de dezembro de 2019. Cabe às secretarias estaduais e municipais de saúde organizar o fluxo de atendimento ao paciente na rede de saúde e configurar o encaminhamento dos pacientes para a Unacon ou Cacon (“Tratamento”, [s.d.]).

Os tratamentos mais comuns para o câncer do colo do útero incluem cirurgia e radioterapia. O tipo de tratamento depende do estágio da doença, do tamanho do tumor e de fatores pessoais, como idade e desejo de preservar a fertilidade (INCA, 2000).

Nos estágios iniciais do câncer, o tratamento conservador tratamentos cirúrgicos como conização ou traquelectomia radical com linfadenectomia laparoscópica. Para pequenas lesões invasivas menores que 2 cm, as cirurgias mais conservadoras devem ser consideradas para evitar complicações e morbidade de cirurgias mais radicais. Para estágios volumosos IB2 e IIA (lesões maiores que 4 cm), IIB, IIIA, IIIB e IVA, as atuais descobertas científicas sobre o tratamento combinado de radioterapia com quimioterapia e subsequente braquiterapia. (“Tratamento”, [s.d.]).

De acordo com um conceito da OMS definido em 1990 e atualizado em 2002, o conjunto de cuidados paliativos demonstra a importância do apoio de uma equipe multidisciplinar, a qual, possui como objetivo melhorar a qualidade de vida dos pacientes e de seus familiares frente a uma doença que ameaça a vida, a prevenção e o alívio do sofrimento obtido pela identificação precoce, avaliação adequada e tratamento da dor, além de outros sintomas físicos, sociais, psicológicos e espirituais (WHO, 2002).

Os cuidados paliativos devem incluir as investigações necessárias para um melhor entendimento e manejo das complicações e sintomas angustiantes, tanto relacionados ao tratamento quanto ao desenvolvimento da doença. Apesar da conotação negativa ou passiva do termo, a abordagem e o tratamento paliativo devem

ser extremamente ativos, principalmente em pacientes com câncer avançado, onde algumas modalidades de tratamento cirúrgico e radioterápico são essenciais para o controle dos sintomas. A carga devastadora de sintomas físicos, emocionais e psicológicos que aumentam em pacientes terminais exige a adoção precoce de abordagens terapêuticas dinâmicas e ativas que respeitem as limitações do paciente, mesmo diante de sua situação incurável (“Cuidados paliativos”, [s.d.]).

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Trazendo como considerações finais é destacado que os genes E1, E2 e E4 que possuem as funções de replicação, transcrição e maturação, respectivamente, desempenham seus papéis de maneira mais discreta. Já E5, E6 e E7 são apontados como os principais responsáveis para o desenvolvimento do câncer, pois numa ação conjunta bloqueiam os principais mecanismos de defesa da célula que têm como função suprimir o surgimento da neoplasia. Com isso, é importante frisar que estes são os principais fatores a serem investigados, para que assim surjam ideias de como intervir na ação destes genes após a possível infecção pelo HPV.

Mais da metade dos cânceres cervicais invasores são detectados em mulheres que não participaram de triagem regular. Embora os cânceres invasores precoces do colo uterino (carcinomas micro invasores) possam ser tratados apenas por biópsia em cone, a maioria dos cânceres invasivos é tratada por histerectomia com dissecação de linfonodos, e, para lesões avançadas, irradiação e quimioterapia. O prognóstico e a sobrevida nos carcinomas invasores dependem em grande parte do estágio no qual o câncer é inicialmente descoberto e, em certo grau, do tipo celular, com tumores neuroendócrinos de pequenas células apresentando um prognóstico muito desanimador. Com os tratamentos atuais, a taxa de sobrevida em 5 anos é de 100% para carcinomas micro invasores, e menos do que 50% para tumores que se estendem além da pelve. A maioria dos pacientes com câncer de colo uterino avançado morre das consequências da invasão tumoral local (p. ex., obstrução uretral, pielonefrite e uremia), e não das complicações da doença metastática.

Como o câncer do colo uterino é inicialmente assintomático, o exame preventivo é essencial. Quando ocorrem, os sintomas mais comuns são sangramento vaginal anormal, sangramento após relação sexual e secreção vaginal (líquida,

mucosa, com mau cheiro ou até mesmo purulenta). Nos quadros de doença avançada, os pacientes podem se queixar de dor lombar com irradiação para os membros inferiores ou de dor pélvica. Outras manifestações encontradas em quadros de doença avançada são sinais intestinais ou urinários como hematúria, hematoquezia ou eliminação de fezes/urina pela vagina. Desse modo, a promoção de educação em saúde é essencial para prevenção e rastreamento precoce desse câncer.

## REFERÊNCIAS

BERNARD, H.-U. et al. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. **Virology**, v. 401, n. 1, p. 70–79, maio 2010.

CARTER, J. J. et al. Human papillomavirus 16 and 18 L1 serology compared across anogenital cancer sites. **Cancer Research**, v. 61, n. 5, p. 1934–1940, 1 mar. 2001.

CARTER, JOSEPH J. et al. Comparison of Human Papillomavirus Types 16, 18, and 6 Capsid Antibody Responses Following Incident Infection. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 181, n. 6, p. 1911–1919, jun. 2000.

CARVALHO, N. S. DE et al. Protocolo Brasileiro para Infecções Sexualmente Transmissíveis 2020: infecção pelo papilomavírus humano (HPV). **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 30, n. spe1, 2021.

CASARIN, M. R. P; ESCOBAR, J. C. Educação em saúde para prevenção do câncer de colo do útero em mulheres do município de Santo Ângelo/RS. **Ciência & Saúde Coletiva [online]**. 2011, v. 16, n. 9, pp. 3925-3932. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1413-81232011001000029>>.

**Cobertura do rastreamento em inquéritos nacionais.** Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/control-docancer-do-colo-do-utero/dados-e-numeros/cobertura-do-rastreamento-em-inqueritosnacionais>>.

COICO-VEGA, M. M; IGLESIAS-OSORES, S; AGUILAR-GAMBOA, F. R. Detección de oncoproteínas e6/e7: una alternativa para el tamizaje de cáncer de cérvix. **Revista Experiencia en Medicina del Hospital Regional Lambayeque**, v. 4, n. 3, p. 108-111, 2018.

COLEMAN, N. et al. Immunological events in regressing genital warts. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 102, n. 6, p. 768–774, 1 dez. 1994.

**Cuidados paliativos.** Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/ptbr/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/control-do-cancer-do-colo-doutero/acoes/cuidados-paliativos>>.

DE JONG, A. et al. Frequent detection of human papillomavirus 16 E2-specific Thelper immunity in healthy subjects. **Cancer Research**, v. 62, n. 2, p. 472–479, 15 jan. 2002.

DE JONG, A. et al. Human papillomavirus type 16-positive cervical cancer is associated with impaired CD4+ T-cell immunity against early antigens E2 and E6. **Cancer Research**, v. 64, n. 15, p. 5449–5455, 1 ago. 2004.

DE VOS VAN STEENWIJK, P. J. et al. Surgery followed by persistence of high-grade squamous intraepithelial lesions is associated with the induction of a dysfunctional HPV16-specific T-cell response. **Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research**, v. 14, n. 22, p. 7188–7195, 15 nov. 2008.

DOORBAR, J. et al. The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses. **Vaccine**, v. 30, p. F55–F70, nov. 2012.

DUNN, G. P. et al. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. **Nature Immunology**, v. 3, n. 11, p. 991–998, nov. 2002.

EINSTEIN, M. H. et al. Clinician's guide to human papillomavirus immunology: knowns and unknowns. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 9, n. 6, p. 347–356, jun. 2009.

EINSTEIN, M. H. et al. Combined human papillomavirus DNA and human papillomavirus-like particle serologic assay to identify women at risk for high-grade cervical intraepithelial neoplasia. **International Journal of Cancer**, v. 120, n. 1, p. 55–59, 2006.

EINSTEIN, M. H. et al. Genetic Variants in TAP Are Associated with High-Grade Cervical Neoplasia. **Clinical Cancer Research**, v. 15, n. 3, p. 1019–1023, 1 fev. 2009.

FRANCIS, D. A.; SCHMID, S. I.; HOWLEY, P. M. Repression of the Integrated Papillomavirus E6/E7 Promoter Is Required for Growth Suppression of Cervical Cancer Cells. **Journal of Virology**, v. 74, n. 6, p. 2679–2686, 15 mar. 2000.

FRAZER, I. H. Interaction of human papillomaviruses with the host immune system: A well evolved relationship. **Virology**, v. 384, n. 2, p. 410–414, fev. 2009.

GOMES DA SILVA, J. **MINISTÉRIO DA SAÚDE Instituto Nacional de Câncer**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <[https://antigo.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//diretrizesparaaorastreatmentodocancerdocolodoutero\\_2016\\_corrigeo.pdf](https://antigo.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//diretrizesparaaorastreatmentodocancerdocolodoutero_2016_corrigeo.pdf)>. Acesso em: 15 out. 2022.

HASAN, U. A. et al. TLR9 Expression and Function Is Abolished by the Cervical

Cancer-Associated Human Papillomavirus Type 16. **The Journal of Immunology**, v. 178, n. 5, p. 3186–3197, 20 fev. 2007.

HAZARD, K. **Cutaneous Human Papillomaviruses**. Colone: University of Cologne, 2007a. Disponível em: <https://portal.research.lu.se/portal/files/4701197/548495.pdf>

HOWIE, H. L.; KATZENELLENBOGEN, R. A.; GALLOWAY, D. A. Papillomavirus E6 proteins. **Virology**, v. 384, n. 2, p. 324–334, fev. 2009.

**HPV e câncer do colo do útero - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde**. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/hpv-e-cancer-do-colo-doutero>>.

HUBERT, P. et al. E-cadherin-dependent adhesion of dendritic and Langerhans cells to keratinocytes is defective in cervical human papillomavirus-associated (pre)neoplastic lesions. **The Journal of Pathology**, v. 206, n. 3, p. 346–355, 1 jul. 2005.

LETO, M. DAS G. P. et al. Human papillomavirus infection: etiopathogenesis, molecular biology and clinical manifestations. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 2, p. 306–317, 1 abr. 2011.

MHATRE, M. et al. Cervical Intraepithelial Neoplasia Is Associated With Genital Tract Mucosal Inflammation. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 39, n. 8, p. 591–597, ago. 2012.

MOSCICKI, A.-B. et al. Risk of high-grade squamous intraepithelial lesion in HIVinfected adolescents. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 190, n. 8, p. 1413–1421, 15 out. 2004.

MOTA, F. et al. The antigen-presenting environment in normal and human papillomavirus (HPV)-related premalignant cervical epithelium. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 116, n. 1, p. 33–40, 1 abr. 1999.

NAKAGAWA, M. et al. Cytotoxic T lymphocyte responses to E6 and E7 proteins of human papillomavirus type 16: relationship to cervical intraepithelial neoplasia. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 175, n. 4, p. 927–931, 1 abr. 1997.

NGUYEN, C. L.; MÜNGERK. Human Papillomavirus E7 Protein Deregulates Mitosis via an Association with Nuclear Mitotic Apparatus Protein 1. **Journal of Virology**, v. 83, n. 4, p. 1700–1707, 15 fev. 2009.

PALEFSKY, J. M.; HOLLY, E. A. Chapter 6: Immunosuppression and Co-infection with HIV. **JNCI Monographs**, v. 2003, n. 31, p. 41–46, 1 jun. 2003.

PANCERA, T. R.; DOS SANTOS, G. H. N. Epidemiologia Molecular da infecção pelo papilomavírus humano (HPV) e câncer cervical no Brasil: Revisão Integrativa. **Revista de Patologia do Tocantins**, v. 5, n. 2, p. 79-83, 2018.

PARK, J.-S. et al. Inactivation of Interferon Regulatory Factor-1 Tumor Suppressor Protein by HPV E7 Oncoprotein. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 10, p. 6764–6769, 10 mar. 2000.

PEREIRA, P. F et al. **Qualidade de vida em pacientes com câncer de colo uterino**. 2019.

PIERSMA, S. J. Immunosuppressive Tumor Microenvironment in Cervical Cancer Patients. **Cancer Microenvironment**, v. 4, n. 3, p. 361–375, 31 maio 2011.

**Prevenção do câncer do colo do útero**. Disponível em:

<<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/gestor-e-profissional-de-saude/controlerdocancer-do-colo-do-utero/acoes/prevencao#:~:text=10%2F2022%2021h22->>>. Acesso em: 3 dez. 2022.

RONCO, L. V. et al. Human papillomavirus 16 E6 oncoprotein binds to interferon regulatory factor-3 and inhibits its transcriptional activity. **Genes & Development**, v. 12, n. 13, p. 2061–2072, 1 jul. 1998.

SIMÕES, L. P.; JUNIOR, G. Z. Vírus HPV e o desenvolvimento de câncer de colo de útero—uma revisão bibliográfica. **Uningá Journal**, v. 56, n. 1, p. 98-107, 2019.

SOUSA, A. C. O. et al. Caracterização das alterações citopatológicas e fatores de riscos associados ao desenvolvimento do câncer de colo útero. **Uningá Review Journal**, v. 30, n. 1, 2017.

SOUZA, G. C. S. et al. **Papilomavírus humano: biologia viral e carcinogênese**. Femina, p. 189-192, 2015.

Taxon Details | ICTV. Disponível em:

<[https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode\\_id=202103973](https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202103973)>. Acesso em: 15 out. 2022.

TOMMASINO, M. et al. The role of TP53 in Cervical carcinogenesis. **Human Mutation**, v. 21, n. 3, p. 307–312, 1 mar. 2003.

**Tratamento**. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/gestor-eprofissional-de-saude/controlerdocancer-do-colo-do-utero/acoes/tratamento>>.

TSUCHIYA, C. et al. O câncer de colo do útero no Brasil: uma retrospectiva sobre as políticas públicas voltadas à saúde da mulher. **Jornal Brasileiro de Economia da Saúde**, v. 9, n. 1, p. 137–147, abr. 2017.

VAN DER BURG, S. H. et al. Association of cervical cancer with the presence of CD4+ regulatory T cells specific for human papillomavirus antigens. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, n. 29, p. 12087–12092, 17 jul. 2007.

VIGILÂNCIA de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2019. [s.l: s.n.]. Disponível em: <[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel\\_brasil\\_2019\\_vigilancia\\_fatores\\_risco.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2019_vigilancia_fatores_risco.pdf)>.

VIMAR, A. C. A. V.; BRAGA, A. C. S.; VIANNA, Y. I. **Câncer de colo uterino e HPV**. In: Simpósio. 2020.

WANG, S. S. et al. Determinants of human papillomavirus 16 serological conversion and persistence in a population-based cohort of 10 000 women in Costa Rica. **British Journal of Cancer**, v. 91, n. 7, p. 1269–1274, 4 out. 2004.

WANG, X; HUANG, X; ZHANG, Y. Involvement of human papillomaviruses in cervical cancer. **Frontiers in microbiology**, p. 2896, 2018.

WELTERS, M. J. P. et al. Detection of human papillomavirus type 18 E6 and E7-specific CD4+ T-helper 1 immunity in relation to health versus disease. **International Journal of Cancer**, v. 118, n. 4, p. 950–956, 15 fev. 2006.

WELTERS, M. J. P. et al. Frequent display of human papillomavirus type 16 E6-specific memory t-Helper cells in the healthy population as witness of previous viral encounter. **Cancer Research**, v. 63, n. 3, p. 636–641, 1 fev. 2003.

WOO, Y. L. et al. A prospective study on the natural course of low-grade squamous intraepithelial lesions and the presence of HPV16 E2-, E6- and E7-specific T-cell responses. **International Journal of Cancer**, v. 126, n. 1, p. 133–141, 1 jan. 2010.

YUAN, C.-H.; FILIPPOVA, M.; DUERKSEN-HUGHES, P. Modulation of Apoptotic Pathways by Human Papillomaviruses (HPV): Mechanisms and Implications for Therapy. **Viruses**, v. 4, n. 12, p. 3831–3850, 18 dez. 2012.

# RELAÇÃO ENTRE A MUSICALIDADE GESTACIONAL E O DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO E AUDITIVO DO BEBÊ

## RELATIONSHIP BETWEEN GESTATIONAL MUSICALITY AND THE DEVELOPMENT OF THE BABY'S NERVOUS AND AUDITORY SYSTEMS

Lóris Cristina Rodrigues<sup>1</sup>  
Carolina Batista Ariza Tamarozzi<sup>2</sup>  
Anelise Franciosi<sup>3</sup>

422

### RESUMO

Este trabalho estabelece a influência dos sons no desenvolvimento do sistema auditivo e nervoso do bebê, através de uma revisão de literatura científica e como os resultados dos mesmos se relacionam com a pesquisa de campo realizada com mães e gestantes. Para essa pesquisa foram utilizadas as plataformas: Google Acadêmico, PubMed, Revista da Abem, Lilacs e Scielo. Com o objetivo de analisar a produção científica referente à música na gestação, contemplando os artigos escritos até 2023. Diante da análise dos trabalhos encontrados, foi possível apontar que as experiências sonoras vivenciadas no útero, podem trazer ao bebê, após seu nascimento, uma estabilidade sonora musical dos sons transmitidos no período intrauterino. A literatura sugere que podem trazer à tona a memória dessa vivência, pois percebemos que o bebê já vem ao mundo com uma bagagem auditiva específica que foi armazenada durante os meses de sua vida pré-natal.

**Palavras-chave:** música na gestação; sistema auditivo fetal; desenvolvimento fetal e a música.

### ABSTRACT

This work establishes the influence of sounds on the development of the baby's auditory and nervous system, through a review of scientific literature and how their results relate to field research carried out with mothers and pregnant women. For this research, the following platforms were used: Google Scholar, PubMed, Revista da Abem, Lilacs and Scielo. With the aim of analyzing the scientific production regarding music during pregnancy, including articles written until 2023. Based on the analysis of the works found, it was possible to point out that the sound experiences experienced in the womb can bring stability to the baby after birth. musical sound of sounds transmitted during the intrauterine period. The literature suggests that they can bring back the memory of this experience, as we realize that the baby already comes into the world with specific auditory baggage that was stored during the months of his

<sup>1</sup> Graduanda do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia - UniFil. Lorisro@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Orientadora: Professora (doutora) do curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia - UniFil. Carolina.ariza@unifil.br.

<sup>3</sup> Orientadora: Professora (doutora) do curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia - UniFil. Anelise.franciosi@unifil.br.

prenatal life.

**Keywords:** music during pregnancy; fetal auditory system; fetal development and music.

## 1 INTRODUÇÃO

A música e sua importância podem ser compreendidas partindo de diferentes perspectivas de análise, que foram difundidas no decorrer da história da humanidade. À luz de Penna (2008), compreende-se a música como uma atividade essencialmente humana, por meio da qual o indivíduo constrói suas significações em relação ao mundo, diferenciadas de acordo com o espaço social e histórico em que se encontra. Vale ressaltar também que a música acompanha o ser humano em toda a sua trajetória, e pode ser considerada uma importante forma de comunicação e expressão por meio do som (NOGUEIRA, 2004), que possibilita a interação social, logo o desenvolvimento humano.

O interesse pelo tema do presente trabalho vem de minhas reflexões como estudante, cursando simultaneamente as graduações em Música e Biomedicina. Na área da Biomedicina, participei de debates ensejados em um projeto de pesquisa de iniciação Científica a respeito do desenvolvimento do feto no período intrauterino, principalmente, o início do desenvolvimento da audição e do seu sistema nervoso, analisando suas primeiras percepções sonoras em relação ao meio em que está inserido. A partir do desenvolvimento do sistema nervoso fetal, a maioria dos sinais sonoros percebidos e que são recebidos pelo cérebro, influenciam no sistema cognitivo de memória do bebê. Principalmente, quando o mesmo tem uma experiência sonora com voz, linguagem, música e sons ambientais significativos durante as últimas semanas no útero (GRAVEN *et al.*, 2008).

Na área da Música, fui exposta a concepções de autores indicando que a vivência musical desde a mais tenra idade favorece no seu desenvolvimento, principalmente nas habilidades musicais; quanto antes se inicie o contato com a música por meio da escuta e do fazer musical, maiores são as possibilidades de se apropriar desse conhecimento (CABRERA, 2007; ILARI, 2002; NOGUEIRA, 2004).

Deste primeiro contato com estudos sobre a música na gestação, sabendo que

o ambiente intrauterino não é silencioso e que o feto reage ao som, surgiu como objetivo geral investigar o impacto dos sons musicais no desenvolvimento do sistema nervoso central e sistema auditivo fetal, por meio de uma pesquisa de campo a fim de analisar a percepção da gestante em relação a seu bebê, durante o desenvolvimento intrauterino. Sendo assim, emerge como questão inicial para essa pesquisa: Se há uma reação do feto ao som, então será que o ambiente sonoro, exerce uma influência, desde antes do nascimento, em algum aspecto do desenvolvimento do sistema auditivo e nervoso do bebê? E as questões correlatas: O que os pesquisadores tem difundido a respeito da relação entre o ambiente sonoro e o desenvolvimento do feto na gestação? Como os resultados da pesquisa de campo, em relação a percepção sonora materna, implicam no desenvolvimento do feto?

## 2 METODOLOGIA

A partir desses questionamentos, o presente trabalho analisou produções científicas referente ao desenvolvimento auditivo e neuro-cognitivo do feto diante à exposição ao ambiente sonoro, contemplando artigos escritos até o ano de 2023. Para este fim, foram definidos como objetivos específicos: selecionar as publicações de diferentes plataformas e descrever as contribuições das referidas produções em relação a cada uma das questões de pesquisa, além de relacionar com a pesquisa de campo realizada com as gestantes e mães não gestantes.

A pesquisa de campo foi desenvolvida por meio de um questionário em “ambiente” virtual. Foram obtidas respostas de 100 gestantes e/ou lactantes. O critério de inclusão foi o contato com a música durante a gestação e a idade da criança, que foi desde a idade gestacional até 12 meses. Como critério de exclusão, foram excluídas do estudo participantes que não tiveram contato com a música durante a gestação, e as com filhos com mais de 12 meses de idade.

Para atender os objetivos propostos, foi adotado para este trabalho como abordagem metodológica a pesquisa de campo atrelado com a revisão bibliográfica para complementação. Os locais de busca foram as plataformas: Google acadêmico (<https://www.scholar.google.com>), PubMed (<https://www.pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>), Revista da Abem (<https://www.abemeducacaomusical.com.br>), Lilacs (<https://lilacs.bvsalud.org>) e Scielo (<https://www.scielo.br>).

Como estratégia de busca, foram selecionadas as seguintes palavras-chave: “sons e gestação”, “sons na gravidez”, “bebê e a música”, “bebês e música”, “música na gravidez”, “gestação e música”, “feto e a música”, “música no desenvolvimento fetal”, “desenvolvimento do sistema nervoso fetal”, “desenvolvimento do sistema auditivo fetal”, “cérebro do bebê”.

Sendo assim, os trabalhos foram selecionados pelos resumos, obedecendo os seguintes critérios: a) Critérios de inclusão: trazer contribuições relevantes para responder a questão da pesquisa, englobando os trabalhos que envolvem o ambiente sonoro durante a gestação, tanto o que foi vivenciado pela mulher quanto o som transmitido para o bebê, assim como pesquisas de campo que abordam a música na gravidez; b) Critérios de exclusão: textos que referem-se a musicoterapia; textos onde a música na gestação era apenas mencionada para introduzir outros temas de pesquisa.

### **3 O AMBIENTE SONORO**

Imagine determinada situação: uma pessoa, com a sensibilidade auditiva preservada, de dentro de sua casa ou apartamento, que se encontra em uma região urbana, pode ouvir sons do interior da residência vindos de interfones, chamadas ao telefone fixo, conversas ao celular, televisão, talheres e outros utensílios de cozinha, entre outros; sons externos provenientes da rua, ruidosos e estridentes, como buzinas de carros ou escapamentos alterados de motocicletas; sons de construção, como martelos fixando pregos em madeiras, betoneiras a prepararem o concreto; se houver árvores por perto, é possível que ouça o som de pássaros, principalmente ao amanhecer. Conseguiu imaginar esses sons? Quais deles estão ao seu redor? E quais outros que não foram descritos você consegue perceber? Se quiser, antes de dar continuidade à leitura, experimente fechar os seus olhos e “escutar atentamente” os sons que lhe cercam. Para a educadora musical brasileira Teca Alencar de Brito (2019, p. 70 e 79), a escuta atenta ou ativa “porta uma forte intenção de escuta; uma escuta exploratória que pode focar uma direção, um tema, um objeto etc. Uma escuta atenta envolve, também, conectar-se com o silêncio, em suas muitas formas e possibilidades. [...] Mais do que ouvir (processo fisiológico), escutar é um processo

ativo, atrelado às nossas intenções de escuta”.

O objetivo dessa experiência é que se compreenda o que é o ambiente sonoro, o qual é composto por sons que estão ao nosso redor, como a música, o ruído, os sons fundamentais, os sinais, as marcas sonoras. Os sons, em seu conjunto, caracterizam e diferenciam os mais variados tipos de ambiente.

O compositor canadense Raymond Murray Schafer (1933-2021) iniciou, na década de 1970, os estudos referentes ao ambiente sonoro e à ecologia acústica que é o estudo da relação entre os organismos vivos e seu ambiente. Ecologia acústica ou ecologia sonora é o estudo dos efeitos do ambiente acústico, ou paisagem sonora, sobre as respostas físicas ou características comportamentais das criaturas que nele vivem. A partir de então, o autor se dedica a realizar pesquisas sistemáticas a respeito desses temas.

Schafer (2011) utiliza o termo “paisagem sonora” (é como se traduz, consensualmente nos países latinos, o termo *soundscape* criado por Murray Schafer) para se referir ao ambiente acústico. A partir de seu estudo, é possível categorizar os sons da paisagem sonora em três importantes e principais temas: os sons fundamentais, os sinais e a marca sonora.

Sons fundamentais é um termo que se refere ao ‘som básico’ ou som de referência na caracterização do ambiente acústico. Schafer (2011) aponta, como exemplos de sons fundamentais de uma paisagem, “os sons criados por sua geografia e clima: água, vento, planície, pássaros, insetos, animais”. São sons que, geralmente, passam despercebidos pelos nossos ouvidos, mas que ajudam a caracterizar sonoramente cada lugar. Os sons fundamentais não precisam ser ouvidos conscientemente, mas são entreouvidos, não sendo passíveis de serem examinados já que se tornam hábitos auditivos a despeito deles mesmos. Os sinais são sons que se destacam, empregados como recursos de avisos, geralmente ouvidos conscientemente, como sinos, apitos, buzinas e sirenes, por exemplo. Já a marca sonora se refere a um som que seja único para a comunidade ou que tenha qualidades determinadas que o tornem especialmente significativo ou notado pela população de um determinado lugar. A partir do momento que a marca sonora é identificada, deve-se protegê-la por tornar única a vida acústica da comunidade (SCHAFER, 2011).

A música possui diversas funções e acompanha o ser humano, praticamente,

em todos os momentos de sua trajetória. Além disso, a música pode ser vista como uma importante forma de comunicação (Nogueira, 2004). De acordo com o pensamento de Amorim (2021), à luz de Bowman (1994), a música pode ser entendida de formas distintas, a partir de perspectivas diferentes de análise, que foram difundidas no decorrer da história da humanidade. Em sua compreensão, a música, antes de tudo, é som, contudo, não pode ser entendida e definida baseando-se apenas em características sonoras e físicas, mas também em como o indivíduo se relaciona com esses objetos sonoros (BOWMAN *apud* AMORIM, 2021).

Estudos realizados pelo Dr. Berestein, publicado na revista *Super Interessante* (1998) evidenciaram que a sensibilidade aos sons tem início ainda no ambiente intrauterino, e que o recém-nascido se acalma com músicas que costumava ouvir durante sua gestação. Além do mais, as aptidões linguísticas são iniciadas na fase final da gravidez, logo, as mães que costumam conversar com o feto estão estimulando a musicalidade e ritmo linguísticos (MATIAS, 1999).

Com isso, útero pode ser considerado um ambiente acústico formado por sons provenientes da própria mãe e do feto, como sons internos de batimentos cardíacos, da circulação sanguínea, da digestão, dentre outros sons presentes no corpo humano; assim como sons externos, que, mesmo atenuados, são transmitidos por via placentária, destacando-se a voz humana, em particular, a voz materna, e a música. Sendo assim, muitas pesquisas demonstram que o útero não é um espaço silencioso (CABRERA, 2007; CARVALHO, 2011; JABER, 2013; ILARI, 2002). De acordo com Ilari (2002), o ambiente uterino não é livre de ruídos, pelo contrário, é um ambiente sonoro rico e único, e é isto que proporciona ao bebê uma grande mistura de sons externos e internos.

Uma vez que se nota a presença de sons externos e internos no útero materno, e o contato do bebê com esses sons, é importante pensar na relação entre o ambiente sonoro e a gestação.

### 3.1 O AMBIENTE SONORO E A GESTAÇÃO

A pesquisadora Simone Cabrera Pires realizou um estudo na área da Música, em 2007, acerca da relação da gestante com o meio sonoro e de que forma essa

relação pode afetar a saúde da mãe e, conseqüentemente, a do bebê. Sua principal fonte para fundamentar a investigação do tema foram os trabalhos de Schafer, buscando realçar a relação entre a paisagem sonora e a gestação. Para que o trabalho fosse realizado, utilizou-se de uma comunidade virtual em antiga plataforma chamada *Orkut*, como meio de contato com as gestantes, sujeitas da sua pesquisa.

Dada a aproximação do estudo de Cabrera (2007) com a temática desta pesquisa, as considerações dessa autora ganharam lugar de destaque no presente trabalho. Ela expõe que “os sons existem em profusão a nossa volta, e são parte integrante da vida cotidiana. [...] Dentre os sons que compõem o ambiente acústico, existem alguns que não nos agradam, cuja presença é inoportuna ou indesejada, os quais chamamos de ruídos. Quando um ambiente está carregado de ruídos, o humor se altera, e se essa situação permanecer por mais tempo a saúde também será afetada” (CABRERA, 2007, p. 52).

Nota-se que Cabrera (2007), inspirada nos estudos de Schafer, refere-se a ruído como um “som inoportuno ou não desejado”. Optou-se, nesta pesquisa, por adotar esta definição, ao associar o ruído à poluição sonora.

A poluição sonora, na atualidade, é derivada do aumento dos sons e ruídos do mundo. Dessa forma, os ruídos estão presentes no cotidiano da população sendo sons que o indivíduo aprende, muitas das vezes, a ignorar. Porém, pelo fato de os ruídos serem vibrações, esses sons podem afetar fisiologicamente o indivíduo, principalmente quando os ruídos são intensos, tendo potencial de causar dores de cabeça, náuseas, redução de visão, debilitação das funções cardiovasculares, respiratórias e gastrointestinais, estresse (SCHAFER, 2011).

Corroborando com essa ideia, Cabrera (2007) pontua que, na gravidez, se deve ter os devidos cuidados pré-natais para que não ocorra riscos à saúde da gestante e do feto. Ela acrescenta que, caso não haja esse cuidado, pode ocorrer problemas placentários, aborto espontâneo, vômito excessivo, anemia, desenvolvimento do bebê fora do útero (gravidez ectópica), entre várias outras complicações. Algumas destas podem estar relacionadas com o estado de saúde da mãe, afetado, principalmente, pelo ambiente externo, incluindo o sonoro.

### 3.2 OS EFEITOS DO SOM E DA MÚSICA NA GESTAÇÃO

No período gestacional, ocorre uma série de transformações no corpo da mulher grávida, que podem levar a mudanças no estado de saúde dessa mãe. Nesse sentido, Cabrera (2007) ressalta que, “ao compreender os processos fisiológicos envolvidos na gestação, é possível entender como estes influenciam as reações ao meio, e também entender como o meio acústico pode refletir-se em mudanças nos estados físicos da gestante. O mesmo se dá com processos emocionais e psicológicos envolvidos no desenvolvimento da gestação.”

Se por um lado, os sons e as músicas podem ser associados a efeitos físicos e psicológicos na gestante, por outro lado, sugere-se que o feto seja capaz de captar os estados emocionais da mãe. A grávida, a partir de seu estado emocional, libera substâncias químicas que vão para a circulação sanguínea atingindo a placenta, que são transmitidas para a circulação sanguínea do feto (JABER, 2013).

Dentre as ideias expostas por Carvalho (2011), destaca-se que “o som, o ritmo e, em particular, a voz materna, parecem constituir algumas das primeiras experiências sensoriais e emocionais da criança no seu ambiente primordial”.

À luz de Busnel (1998), Carvalho (2011) destaca que o canto da mãe é um exemplo musical que parece ser transmitido ao feto com maior acuidade auditiva do que a fala materna, parecendo observar-se a precocidade da voz materna cantada, aparentemente transmitida com mais facilidade pela via amniótica, por conta da quantidade de vibrações. Além disso, a autora, que tem por base as ideias do musicoterapeuta Matias (1999), acredita que, através dessas canções, a mãe “acaricia” o bebê antes de seu nascimento através da emissão de vibrações sonoras e o envolve através da criação de um “banho sonoro”.

## 4 MÚSICA E O DESENVOLVIMENTO DO BEBÊ NO PERÍODO INTRAUTERINO

O período pré-natal compreende desde o momento da fecundação até o nascimento do bebê, podendo ser dividido em três etapas: primeiro, o estágio germinativo que engloba o início da fecundação e se prolonga até a metade da segunda semana de gestação, aproximadamente. O segundo estágio é o embrionário, que se inicia próximo à segunda semana e se estende até o final da oitava semana.

E a terceira e último estágio é o fetal, que abrange o início da nona semana intrauterina até o nascimento do bebê (JABER, 2013).

O primeiro mês de gestação, é caracterizado pelo início da circulação sanguínea, sendo um dos primeiros sistemas do organismo humano a funcionar. É também, nesse período que se inicia o desenvolvimento da orelha do embrião, porém a capacidade de audição é adquirida mais tarde no desenvolvimento (JABER, 2013).

No segundo e terceiro mês o embrião passa a apresentar algumas características da forma humana, como o desenvolvimento cerebral e conseqüentemente a funcionalidade de alguns órgãos – como os rins, fígado e estômago – a pele se torna sensível para reagir a estimulação tátil. As células do cérebro começam a se multiplicar e o sistema nervoso inicia seu trabalho, criando conexões neurais com os músculos, permitindo que o embrião se movimente, embora a mãe ainda não possa sentir. No terceiro mês, em específico a partir da oitava semana, o embrião passa a se tornar um feto; e no fim desse período, o mesmo é capaz de realizar diferentes tipos de movimentos, como mover os membros, a cabeça, fechar a boca e engolir, entre outros (JABER, 2013).

Nos dois meses seguintes, o feto tem um maior desenvolvimento muscular, em que as atividades reflexas se intensificam e a gestante é capaz de perceber e sentir os movimentos do bebê em seu ventre. Neste momento, o feto demonstra características de sua personalidade, podendo ser alguns mais calmos e outros mais agitados. Por volta da 20ª semana, o feto começa a apresentar indícios de audição, mas com pouca discriminação, especialmente para sons de baixas frequências (JABER, 2013).

O último trimestre, é a etapa final da gravidez, no qual ocorre o desenvolvimento da visão e aumento de conexões entre as células cerebrais. No oitavo mês, o útero materno deixa de ser um local confortável para o feto, tornando-se apertado e conseqüentemente, o mesmo apresenta movimentos mais restritos. Nesse momento o bebê demonstra preferência e interesse pela voz materna, podendo se acalmar ao escutá-la. O último mês é quando os órgãos estão com seu funcionamento completo e o bebê está pronto para o nascimento (JABER, 2013).

#### 4.1 O SISTEMA AUDITIVO E SISTEMA NERVOSO NO AMBIENTE INTRAUTERINO

No caso da audição em um ambiente intrauterino, o líquido amniótico, que envolve o feto, proporciona um meio propenso para propagação das ondas sonoras. Assim, a rapidez da viagem do som aumenta em aproximadamente quatro vezes nesse meio quando comparado ao ar (VELLOSO *et al.*, 2019).

Alguns estudiosos afirmam que o feto percebe os sons em forma de vibrações através da pele e ossos, ou seja, ele sente os sons antes de ouvi-los. O som da voz da gestante é o mais comum para o feto e o mesmo responde, a partir de sete meses, aos sons com movimentos musculares (GÓMEZ *et al.*, 2006). Diferentes estudos apontam que os fetos possuem a capacidade de identificar, responder e distinguir os sons, tal qual a sua altura e intensidade, sendo capazes de perceber e gerar memórias dos sons intrauterinos (CARVALHO, 2011; CABRERA, 2007; VERRI, 1999).

Sendo assim, para a compreensão do processamento auditivo do ambiente sonoro, tanto dos sons exógenos quanto os endógenos - sons endógenos são aqueles derivados do interior do organismo, como sons de batimentos cardíacos, digestão. Já os sons exógenos provêm do exterior, os sons internalizados pela mãe através do ambiente em que se encontra – com isso, é necessário o conhecimento em relação a estrutura do sistema auditivo e nervoso na captação desses estímulos sonoros (CARVALHO, 2011; ILARI, 2003).

O sistema auditivo é composto por três estruturas, que são: o componente condutivo, formado pela orelha externa e média; o componente sensorial, composto pela cóclea (transforma o impulso sonoro em elétrico) e o componente neural, que está diretamente ligado ao sistema nervoso sendo responsável pela atividade central, as estruturas responsáveis pela atividade central que compõem o sistema auditivo são: o tronco encefálico, vias subcorticais, córtex auditivo, lobo temporal e corpo caloso. As estruturas sensorial e condutiva, fazem parte do sistema periférico que tem como função a detecção e transmissão dos sons, já a estrutura neural, discrimina, localiza e reconhece o som, assim como é responsável pela atenção seletiva, compreensão e memória auditiva (STEINER, 1999).

Em relação a embriologia do ouvido, o ectoderma que confere o sentido do tato, providencia células germinativas para o labirinto, tal como para o sentido da audição.

No término da 5ª semana, é possível diferenciar a região vestibular e a cóclea, que completa seu desenvolvimento após a porção vestibular. Anatomicamente, na 14ª semana, o sistema vestibular já está desenvolvido possibilitando, assim, a transmissão dos sons via nervo vestibular para os centros auditivos centrais (LUZ, 2005).

No que tange ao sistema eferente auditivo, ele emerge do córtex auditivo até a cóclea e, nos níveis inferiores as fibras partem, preferencialmente, do núcleo do complexo olivar superior seguindo em direção a orelha interna (BREUEL *et al.*, 2001). O córtex auditivo é responsável por analisar sons complexos “pela localização de sons; atenção seletiva para estímulos auditivos baseados na posição da fonte sonora; pela inibição das respostas motoras inapropriadas; pela identificação de estímulos; pela discriminação de padrões temporais; pela memória auditiva dos sons em sequência...” (STEINER, 1999, p.11).

As partes estruturais da cóclea na orelha média são bem formadas por volta da 15ª semana de idade gestacional e tornam-se funcionais por volta de 25ª a 29ª semanas. Quando as células ganglionares do núcleo espiral da cóclea conectam as células ciliadas internas ao tronco cerebral e ao lobo temporal do córtex (GRAVEN *et al.*, 2008).

A capacidade de discriminação auditiva fina do feto são desenvolvidas a partir da 6ª semana, principalmente por conta da maturação nervosa do ouvido interno, com isso o sistema auditivo não se torna funcionalmente ativo para todas as frequências de modo uniforme. Até a 16ª semana o feto tem a percepção apenas de sons com baixa frequência – sons endógenos – sendo a partir da 20ª semana gestacional que o ouvido interno, o órgão sensorial e o primeiro codificador das estimulações sonoras já estão bem estruturados e diferenciados. Nesse mesmo período que ocorre a receptividade auditiva do feto e, conseqüentemente, percepção dos sons de alta e média frequência, em nível coclear, emitidos pela voz materna. Os sons de baixa frequência, têm a capacidade de acalmar o bebê diminuindo sua atividade, já os sons de média a alta frequência são capazes de excita-lo e estimular sua atividade motora (CARVALHO, 2011).

A constituição do sistema auditivo não segue uma projeção linear de neurônios que ascendem da cóclea até o córtex cerebral, mas sim uma formação em rede que

interage intensamente com outros sistemas neuronais. Essa interação é feita através de sensores, núcleos nervosos presentes em diferentes alturas e de conexões aferentes e eferentes que seguem mais de um caminho e às vezes entram em contato entre si, formando circuitos de retroalimentação (BREUEL *et al.*, 2001).

Na cóclea é onde se encontram as milhares de células ciliadas, quando o som chega até ela é recebido por uma substância líquida que transmite uma vibração até essas células, essa vibração é transformada em impulsos elétricos que são transportados ao tronco cerebral. Com isso, o córtex recebe as informações, referente as sensações – recebidas pelo tálamo – e divide para as regiões cerebrais. A partir do momento que os impulsos advindos dos estímulos musicais alcançam o córtex, os mesmos ganham significados quando interpretados por áreas específicas (LUZ, 2005).

A partir da vigésima semana de gestação, o feto começa a ouvir os sons endógenos e exógenos, pelo ouvido interno; antes disso o feto apenas sente os sons através das vibrações que chegam a sua pele (CABRERA, 2007; CARVALHO, 2011). Essa estimulação sonora passa a acontecer de duas maneiras: através do tato, por via óssea (como uma massagem corporal), e através da audição, por via aérea. Com isso, pode-se dizer que as vibrações sonoras percebidas pelo feto ocorrem também de forma tátil (MATIAS, 1999).

Sabe-se que, após o nascimento, o bebê continua empregando, no ato da escuta, além de seus ouvidos, todo seu corpo (CABRERA, 2007). De acordo com Moraes (2001) “a pele toda também vibra ao contato com o dado sonoro”.

Como expostos em estudos, a partir da evolução do sistema auditivo o bebê tem um potencial para ouvir tanto sons internos da mãe como o movimento do seu estômago; sua circulação sanguínea e sua pulsação, neste momento já tendo o primeiro contato com a mais forte vibração vivenciada pelo feto, constituindo-se, assim, uma primeira percepção com um dos parâmetros da música que é o ritmo. A segunda vibração mais forte experimentada é do cordão umbilical, no momento de sua alimentação. As demais vibrações intrauterinas não são transmitidas diretamente ao feto, e sim, como vibrações generalizadas do líquido amniótico. Esses sons seriam: a voz materna, sons de movimentos da mãe e de dentro do corpo dela, sons externos do ambiente em que ela se encontra, entre outros. Posto isto, o feto é apto para

perceber sons externos, tendo a música como um evento significativo e benéfico para a criança, proporcionando, então, a ampliação da sua atividade encefálica, seu progresso cognitivo e estabelecendo vínculos afetivos com os pais (DULLIUS, 2021; JABER, 2013).

Presume-se, então, que os bebês não sejam passivos aos sons do ambiente acústico intrauterino, mas, ao contrário, que eles respondem a esse ambiente sonoro, reagindo a sons diversos, de música e de linguagem, mesmo antes de seu nascimento, dado que a sua audição começa a se desenvolver ainda no útero.

#### 4.2 O DESENVOLVIMENTO DA CAPACIDADE DE MEMORIZAÇÃO

De acordo com o médico fisiologista Arthur Clifton Guyton (1976), memória é a capacidade do ser humano de recordar um pensamento pelo menos uma vez e, frequentemente, várias vezes. Cada pensamento envolve sinais simultâneos em determinadas partes do córtex cerebral, tálamo, rinencéfalo e formação reticular do tronco encefálico.

O sistema da memória é responsável pelo armazenamento de informações. É o que alega Ilari (2003), acrescentando que o sistema da memória “[...] é importantíssimo no aprendizado de qualquer disciplina. Devido ao fato de a música ser uma arte temporal (isto é, que existe num determinado tempo e espaço), o sistema da memória tem uma importância fundamental para a educação musical”. Com base nisso, ela sugere que o aprendizado musical de um bebê pode se iniciar ainda no útero materno, a partir das vivências musicais da gestante.

Nas palavras de Carvalho (2011) “O feto não é apenas capaz de captar estímulos sonoros como também parece memorizar traços sonoros que constituem um verdadeiro código sonoro particular, o qual vai se organizando sob a forma de proto-diálogos em resposta ao estado emocional da mãe e ao ambiente que a envolve” (CARVALHO, 2011, p. 36).

Segundo os estudos experimentais dos psicolinguistas Jusczyk e Hohne (1993), demonstraram que bebês com 8 meses de idade conseguiram se lembrar de palavras de uma história, ouvidas por dez dias durante um período de duas semanas. Já os psicólogos Saffran, Loman e Robertson (2000) familiarizaram um grupo de

bebês de 7,5 meses com dois movimentos lentos de sonatas de Mozart, que foram ouvidas diariamente por duas semanas. Após essas duas semanas depois da familiarização musical, os bebês indicaram uma preferência pelas sonatas conhecidas. Esses estudos demonstram que no primeiro ano de vida o bebê já aprende e registra informações musicais que lhe são apresentadas e que há uma memória de longo prazo dos sons musicais induzidos ainda no período gestacional da mulher (ILARI, 2002).

De acordo com o referencial teórico encontrado (CABRERA, 2007; CARVALHO, 2011), há indícios de que a memória sonora em relação à musicalidade da voz materna se torna uma questão primordialmente afetiva, que conseqüentemente é percebida e demonstrada após o nascimento do bebê, a partir do desenvolvimento sensorial auditivo e nervoso.

Compreende-se então, que o sistema de memória está diretamente ligado com o desenvolvimento do feto e, principalmente, com seu sistema auditivo, a partir do ambiente sonoro vivenciado pela gestante e os sons provenientes do interior do útero.

#### 4.3 O “EFEITO MOZART”

Em 1993, foi apresentado o primeiro dos experimentos que ficaram conhecidos como “efeito Mozart”, voltados para investigar qual o efeito no raciocínio espacial de se ouvir as músicas de Mozart.

Foi divulgado que os participantes que tinham sido instruídos a ouvir uma peça de Mozart apresentaram melhores resultados em um teste de raciocínio espacial do que outros participantes, que foram instruídos a ouvir outros sons ou permanecer em silêncio; porém, supostamente, esse “efeito” durava apenas em um curto período de tempo, no máximo 15 minutos.

Após a divulgação popular desses resultados, houve uma interpretação errônea da mídia e da população sobre o “efeito Mozart”, havendo um apelo óbvio para os que apreciavam e valorizavam esta música. Sendo assim, a ideia que começou se espalhar era a de que ouvir Mozart aumentaria o QI geral – mesmo que o QI nunca tenha sido medido no experimento – principalmente se as crianças fossem expostas às suas composições, desde o mais cedo possível, incluindo o período gestacional.

Com isso, o governador local da Georgia, nos Estados Unidos, adquiriu CD's com obras do compositor para distribuir às famílias com filhos recém-nascidos, na década de 1990.

Alguns experimentos realizados posteriormente conseguiram desmistificar as teorias sobre o “efeito Mozart”, enquanto muitos estudos ainda discutem as variáveis que podem influenciar os resultados, como o ambiente em que o indivíduo se encontra, a preferência musical e outros aspectos.

Gomez *et al.* (2006) produziram um artigo que ressalta os “possíveis benefícios da música de Mozart” para fetos e para crianças após o nascimento, defendendo que os bebês que ouviram as músicas de Mozart no período pré-natal, no momento do nascimento (na sala de parto), ao serem expostos às mesmas peças, se sentiam mais calmos e menos agressivos.

De acordo com esses autores, “a reação do feto à música depende do estado ‘acordado ou adormecido’ em que ele se encontra e da relação afetiva que existe entre a mãe e o filho através da música” (GÓMEZ *et al.*, 2006, p. tradução nossa). Apesar dos autores assumirem a defesa dos experimentos chamados “efeito Mozart”, eles admitem que as relações afetivas construídas por meio da música interferem no efeito que esta música causa no sujeito, no caso, o feto.

Sendo assim o efeito da música de Mozart, para cada indivíduo que a ouve, vai depender das relações estabelecidas a partir desse contato, podendo se diferenciar de um ser humano para o outro, de uma mãe para a outra, de um filho para outro.

## REFERÊNCIAS

AMORIM, Fernanda Gomes de. **Ideias sobre música e seus sentidos na educação básica**: uma análise a partir da literatura sobre avaliação em música no Brasil. 2021. 130 p. Dissertação (Mestrado em Música) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2021.

BRITO, Teca Alencar de. **Um jogo chamado música**: escuta, experiência, criação, educação. São Paulo: Peirópolis, 2019.

BREUEL, Mariana Fávero *et al.*, **Vias Auditivas Eferentes e seu Papel no Sistema Auditivo**. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2001.

CABRERA, Simone Pires. **Sons e gestação**: implicações do ambiente sonoro sobre a saúde da gestante e do feto. 2007. 118 p. Dissertação (Mestrado em Música) –

Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2007.

CARVALHO, Maria Eduarda Salgado. **O bebe imaginário, as memórias dos cuidados parentais e as representações sonoro-musicais na gravidez no estudo da representação da vinculação materna pré-natal e da orientação para a maternidade.** 2011. 320 p. Tese (Doutorado em Psicologia) – Universidade de Lisboa, Lisboa, 2011.

DULLIUS, R. J. T. **A influência da música no desenvolvimento do bebê na fase uterina.** 2021. Universidade estadual do Rio Grande do Sul, Montenegro, Rio Grande do Sul, 2021.

GÓMEZ, Ulises Reyes et al. La música de Mozart em el periodo prenatal. **Medgraphic Artemis.** México, v. 74, n. 08, p. 424-428, 2006.

GUYTON, Arthur C. **Anatomia e fisiologia do sistema nervoso.** 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Interamericana Ltda, 1977. p. 170-171.

GRAVEN, Stanley et al., Auditory Development in the Fetus and Infant. **Scienc Direct,** Florida, v. 8, n. 4, p. 187-193, dez. 2008.

ILARI, Beatriz Senoi. Bebês também entendem de música: a percepção e a cognição musical no primeiro ano de vida. **Revista da ABEM,** Porto Alegre, v. 10, n. 7, p. 83-90, set. 2002.

ILARI, Beatriz Senoi. A música e o cérebro: algumas implicações do neurodesenvolvimento para a educação musical. **Revista da ABEM,** Porto Alegre, v. 9, n. 7, p. 7-16, set. 2003.

JABER, Maíra dos Santos. **O bebê e a música:** sobre a percepção e a estruturação do estímulo musical, do pré-natal ao segundo ano de vida pós-natal. 2013. 135 p. Dissertação (Mestrado em Música) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

LUZ, Sérgio Hecker. **Avaliação da resposta fetal à estimulação auditiva a partir da 13ª semana de gestação:** Estimativa temporal da viabilidade neurológica fetal. 2005. 146 p. Tese (Doutorado em Medicina) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2005.

**MATIAS, Giovanna Flávia Alves. A importância da estimulação auditiva durante o período pré e pós-natal. Centro de Especialização de Fonoaudiologia Clínica, Goiânia, 1999.**

MORAES, J. Jota de. Maneiras de ouvir. *In:* MORAES, J. Jota de. **O que é música.** 2 ed. São Paulo: Editora brasiliense, 2001. p. 63.

NOGUEIRA, Monique Andries. A música e o desenvolvimento da criança. **Revista da Universidade Federal de Goiás,** Goiânia, v. 6, n. 2, 2004.

PENNA, Maura. **Música(s) e seu ensino.** Porto Alegre: Editora Sulina, 2008.

SCHAFER, Raymond Murray. **A afinação do mundo**. 2 ed. São Paulo: Editora Unesp, 2011.

STEINER, Luciane. **Processamento auditivo central**. 1999. 71 p. Monografia (Especialização em Audiologia Clínica) – Centro de Especialização em Fonoaudiologia Clínica, Porto Alegre, 1999.

VELLOSO, Bruna Almeida Andrade et al., **Frequência Cardíaca em RecémNascidos Expostos à Melodia Durante o Período Fetal Ensaio Clínico Controlado**. Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira, 2019.

VERRI, Giovana. **A gestante exposta ao ruído: Efeitos auditivos para o feto**. 1999. 35 p. Monografia (Especialização em Audiologia Clínica) – Centro de Especialização em Fonoaudiologia Clínica, Porto Alegre, 1999.

## ANEXO 1

### RESUMO

Este artigo tem como objetivo avaliar como o bebê interage com os sons musicais desde o período gestacional da mulher até após o nascimento. Com base na revisão de literatura científica, foi realizada uma pesquisa de campo envolvendo mulheres grávidas e mães com filhos de no máximo 25 anos, em que as mesmas responderam um questionário sobre a sua percepção em relação aos estímulos sonoros/musicais que influenciam na vivência do bebê. Seguindo os critérios de inclusão e exclusão. Foi possível concluir que uma simples estimulação musical ao feto pode ter como resultados um melhor bem estar e uma estabilidade sonora musical, em que as músicas transmitidas no período intrauterino trazem à tona a memória dessa vivencia.

**Palavras-chave:** música na gestação; sistema auditivo fetal; desenvolvimento fetal e a música.

### 1 INTRODUÇÃO

Diante da revisão da literatura científica, foi realizado um estudo com pesquisa de campo sobre a percepção materna em relação aos estímulos sonoros externos e internos que chegam até o bebê durante a gestação. Com o intuito de fornecer argumentos que ajudam a esclarecer e compreender, de forma prática, a relação do sistema nervoso e auditivo do mesmo, em sua vivência com os eventos sonoros (sendo a música inclusa no conceito de som).

O objetivo de realizar a pesquisa de campo foi trazer resultados práticos do que foi analisado através literatura científica e compreender de que modo a mulher, no período de gestação, se relaciona com os sons aos seu redor, assim como seu bebê.

### 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisadas 50 respostas de mulheres gestantes e mães que têm filho(s) com idade de, no máximo 25 anos, sem deficiência auditiva ou más formações. Os estímulos auditivos analisados foram ruídos e sons da vivência da mãe e filho(a).

Os critérios de inclusão foram:

- Participantes que tiveram contato com a música durante a gestação
- Mulheres gestantes ou lactantes
- Gestação única ou múltipla

- Feto com desenvolvimento normal – sem alterações de escuta ou deficiência auditiva

Para incluir outras mulheres que responderam ao questionário e obter mais respostas para análise, foi ampliado no critério de inclusão, mães que têm filhos com a idade máxima de 25 anos. Os critérios de exclusão foram:

- Participantes que não tiveram contato com a música durante a gestação

No total das 50 respostas obtidas no “ambiente virtual”, não foram excluídas nenhuma resposta, principalmente pelo adendo de que mulheres com filhos de até 25 anos puderam responder o questionário. Sendo assim, todas as participantes assinaram e concordaram com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. A realização da pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob o número 59095022.9.0000.5217.

### 3 RESULTADOS

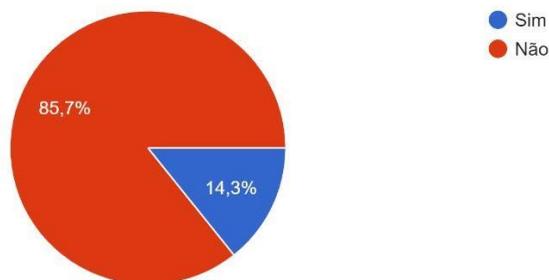
Características demográficas das gestantes e mães em estudo:

- Cidade residente
  - Londrina → 38 mulheres
  - Outras cidades (Cambé, Arapongas, Rosário do Ivaí, São Paulo, São Caetano do Sul, Ampére) → 9 mulheres
- Mulheres no período gestacional → 7 mães
  - De 6 semanas à 31 semanas □ Sexo fetal
  - Feminino = 3
  - Masculino = 3
  - Ainda não sabe = 1
- Mães com filhos de até 25 anos → 42 mães

## Gráfico 1 – Mães gestantes e não gestantes

Você se encontra no período de gestação?

49 respostas



441

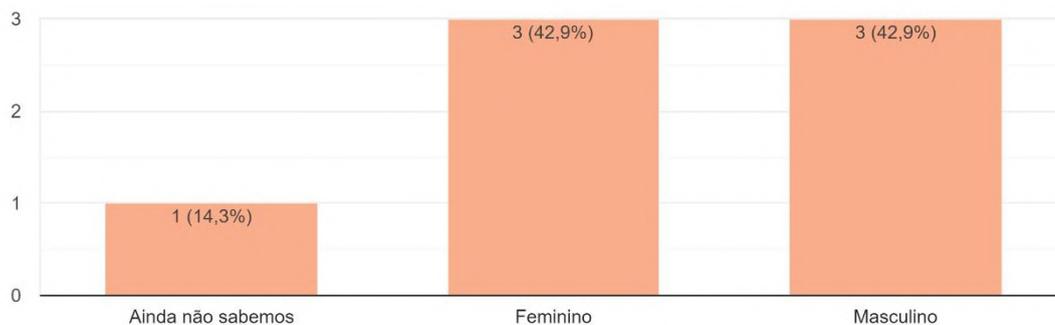
Fonte: Próprio autor (2023)

- Idade do(s) filhos(as) → 5 meses à 22 anos
- Sexo do(s) filhos(as)
  - Feminino = 28
  - Masculino = 24
  - Nenhum = 3

## Gráfico 2 – Sexo dos filhos de mulheres não gestantes

Qual o sexo do seu filhos(as)?

7 respostas



Fonte: Próprio autor (2023)

### 3.1 INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Cada resposta no formulário foi analisada individualmente, para diminuir as chances de erro na sua interpretação e coleta dos dados. Sendo assim, um banco de dados foi construído com o auxílio do Microsoft Excel para melhores análises individuais e coletivas.

## 4 DISCUSSÃO

A resposta fetal perante o estímulo auditivo, durante a gestação, demonstrou-se presente, principalmente, pela lembrança que os bebês tiveram dos sons que os estimularam durante o desenvolvimento embrionário (músicas que mães ouviram nesse período), sugerindo então, o avanço da maturação do sistema auditivo e nervoso central desde a gestação até após o nascimento, assim como a capacidade de assimilação dos sons que foram relevantes para a mãe e seu bebê nesse período.

Exemplos de bebês que memorizaram sons presentes na gestação:

“Há uma experiência interessante, dentre as muitas e muitas melodias que eu usava para tentar nina-lo teve um que eu inventei (tem um momento do cansaço em que a mente divaga, rs). Cantei essa música muitas vezes para nina-lo e depois que cresceu não mais. Muitos anos depois, uns 9 anos depois mais ou menos, para minha surpresa eu o ouvi cantarolando a mesma melodia que eu havia inventado para ele quando era bebê, quando questionado sobre onde ouvira a música ele disse que havia inventado a melodia rrsrsr.”

“Eu escutava muito Caetano Veloso e seus filhos na gestação, ele mexia muito quando colocava a música “deusa do amor”, quando ele era bebê colocava também e ele mexia os bracinhos e gritava, balbuciava.”

Observou-se, também, que a resposta auditiva fetal contribui para melhor definição de bem-estar do feto na gestação e do bebê após seu nascimento, levando em consideração músicas que as mães ouviram e que fazem parte de seu gosto musical e, conseqüentemente, contribuiu para definir a preferência musical de seus filhos(as).

Alguns relatos que comprovam esse argumento:

“Teve uma noite que ao colocar músicas calmas clássicas, Frank Sinatra, Pentathonix, são seleções que gostamos, ele dormiu sem se incomodar com os demais barulhos na casa.”

“Depois de uns três meses cantei a musiquinha de bebê que acostumava a cantar quando gestante e minha filha começou a

sorrir...”

“Sempre que estava mal durante a gestação eu costumava ouvir a música olhos castanhos e toda vez minha bebê mexia para me dar sinal que estava ali comigo.”

“Ela reconhece algumas músicas desde recém nascida, acalma e tranquiliza ela”

De acordo com os estudos de Maíra Jaber (2013), a atividade cerebral de um bebê é bastante semelhante à de um adulto em relação ao processamento musical sugerindo assim que o cérebro do bebê é preparado para “...receber, processar e decodificar estímulos musicais desde muito cedo...” (p. 47), envolvendo as diversas regiões do cérebro. Sendo assim, nas palavras da autora:

Portanto, a música não é um simples estímulo processado pelo cérebro humano, mas ela é capaz de modificar a estrutura cerebral de um indivíduo. Não falamos aqui de modificações funcionais de um cérebro para o outro, mas de modificações estruturais, ou seja, no que diz respeito a quantidades e aos tipos de conexões neuronais (JABER, 2013, p. 47).

A autora Monique Nogueira (2004) afirma:

A prática de música seja pelo aprendizado de um instrumento, seja pela apreciação ativa, potencializa a aprendizagem cognitiva, particularmente no campo do raciocínio lógico, da memória, do espaço e do raciocínio abstrato.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da análise dos dados obtidos através da revisão de literatura científica e pesquisa de campo realizadas, consideramos que durante a gestação o profissional da área da saúde, assim como o educador musical tem um papel relevante em relação conscientização acerca da qualidade do ambiente sonoro, e da conscientização da gestante sobre suas percepções levando ao autoconhecimento e busca por minimizar no ambiente os estímulos aversivos enquanto busca os benefícios.

O ambiente intrauterino transmite ao feto um sentimento de segurança, através da voz materna, principalmente o canto materno, e do ambiente que o envolve, através

dos sons que são transmitidos via placentária e das substâncias químicas advindas da mãe que lhe são transmitidos. Do mesmo modo, essas experiências sonoras vivenciadas no útero, podem trazer ao bebê, após seu nascimento, uma estabilidade sonora musical, em que as músicas transmitidas no período intrauterino trazem à tona a memória dessa vivência. Pois percebemos que o bebê já vem ao mundo com uma bagagem auditiva específica, que foi armazenada durante os meses de sua vida pré-natal.

Neste trabalho tentamos trazer de maneira sintética a análise das literaturas abordadas. Porém, esse é um tema de discussão relativamente novo no Brasil e no resto do mundo, e com isso, é preciso ser cauteloso ao abordá-lo para que não cheguemos a conclusões precipitadas. No entanto, espero que este material sirva como assunto de reflexão para os próximos campos de pesquisas referentes a esse assunto.

## REFERÊNCIAS

JABER, Máira dos Santos. **O bebê e a música: sobre a percepção e a estruturação do estímulo musical, do pré-natal ao segundo ano de vida pós-natal.** 2013. 135 p. Dissertação (Mestrado em Música) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

NOGUEIRA, Monique Andries. A música e o desenvolvimento da criança. **Revista da Universidade Federal de Goiás**, Goiânia, v. 6, n. 2, 2004.

# **PSEUDOMONAS AERUGINOSA: A LUTA CONTRA RESISTÊNCIA BACTERIANA A ANTIBIÓTICOS**

## **PSEUDOMONAS AERUGINOSA: THE FIGHT AGAINST BACTERIAL RESISTANCE TO ANTIBIOTICS**

Nathalia Imazu Yoshida <sup>1</sup>  
Ariane Mayumi Saito Bertão<sup>2</sup>

### **RESUMO**

A resistência bacteriana ocorre quando determinadas bactérias apresentam capacidade de sobreviver em meios onde se tem antibióticos, sendo as multirresistentes, aquelas que são resistentes a vários antibióticos. Ela pode ocorrer devido ao uso exacerbado de antibiótico, se os mesmos forem administrados de maneira errada e sem a supervisão de algum profissional especializado na área. As bactérias podem vir a ser resistentes, a partir de duas ocasiões: contraindo material genético externo, ou, por alterações aleatórias desse material genético. A *Pseudomonas aeruginosa* é um bacilo Gram-negativo, aeróbio, não fermentador de lactose, que normalmente afeta ambientes hospitalares, onde pode-se encontrar pessoas mais suscetíveis a infecções pela mesma, como é o caso de pacientes imunossuprimidos, os que apresentam fibrose cística, pacientes com queimaduras, e os que respiram com ajuda de ventilação mecânica por exemplo. É um dos microrganismos com maior urgência da necessidade de novos antibióticos, juntamente com *Acinetobacter baumannii* e *Enterobacteriales* (*Klebsiella*, *E.coli*, *Serratia* e *Proteus*), tendo um número limitado de antimicrobianos eficazes contra esta bactéria, sendo desta forma, uma bactéria de difícil tratamento e cura. Devido a essa limitação demora no surgimento de novos antibióticos contra *P. aeruginosa*, terapias alternativas não antibióticas podem ser levadas em consideração e serem ainda mais estudadas, para que em um futuro próximo possam ser tão eficazes quanto os antibióticos.

**Palavras-chaves:** resistência bacteriana; *pseudomonas aeruginosa*; antibióticos.

### **ABSTRACT**

Bacterial resistance occurs when certain bacteria have the ability to survive in environments that have antibiotics, and multi-resistant bacteria are those that are resistant to several antibiotics. It can occur due to the exacerbated use of antibiotics, if they are administered incorrectly and without the supervision of a professional specialized in the area. Bacteria can become resistant, on two occasions: by contracting external genetic material, or by random changes in this genetic material. *Pseudomonas aeruginosa* is a Gram-negative, aerobic, non-lactose fermenting bacillus that normally affects hospital environments, where people are more susceptible to infections, such as immunosuppressed patients, those with cystic

<sup>1</sup> Discente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). E-mail: nathiiimazu@hotmail.com.

<sup>2</sup> Docente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). E-mail: ariane.bertao@unifil.br

fibrosis, burn patients, and those who breathe with the help of mechanical ventilation, for example. It is one of the most urgent microorganisms in the need for new antibiotics along with *Acinetobacter baumannii* and *Enterobacteriales* (*Klebsiella*, *E.coli*, *Serratia* and *Proteus*), having a limited number of effective antimicrobials against this bacterium, making it a difficult bacterium to treat and cure. Due to this limitation and delay in the emergence of new antibiotics against *P. aeruginosa*, alternative non-antibiotics therapies can be considered and further studied, so that in the near future they can be as effective as antibiotics.

**Keywords:** bacterial resistance; *pseudomonas aeruginosa*; antibiotics.

## 1 INTRODUÇÃO

Cada dia mais, os termos resistência bacteriana e bactérias multirresistentes vêm sendo comentados e discutidos, e uma série de pesquisas sobre estes assuntos estão sendo realizadas. Quando se fala em bactérias, deve-se lembrar que estas são organismos de natureza procarionte, ou seja, não apresentam núcleo, fazendo com que seu material genético fique livre por todo citoplasma (REIS; SANTOS, 2016).

O termo antibiótico, foi utilizado pela primeira vez pelo bioquímico ucraniano Selman Abraham Waksman, que adotou a palavra para explicar moléculas formadas por um micróbio, que se opõem a outros micróbios (CLARDY; FISCHBACH; CURRIE, 2009). Os antibióticos possuem a propriedade de impedir o crescimento dos microrganismos levando os mesmo à morte (CARNEIRO, 2019).

As bactérias multirresistentes, são aquelas capazes de sobreviver e resistir a variadas classes de fármacos. Essa resistência pode ser explicada como um *feedback* das bactérias ao uso exacerbado dos antibióticos. Quando começou a se falar em resistência bacteriana, os casos acometiam principalmente os hospitais, porém nos dias atuais a barreira hospitalar foi ultrapassada e já está atingindo diversos tipos de ambientes, e também diferentes indivíduos (LOUREIRO; ROQUE; RODRIGUES et al., 2016).

A resistência bacteriana é uma consequência diante do uso imprudente dos antibióticos e a presença de bactérias também no meio ambiente (COSTA; SILVA, 2017). O grande problema está no surgimento das bactérias multirresistentes, que são as consideradas resistentes a três ou mais classes de antibióticos (ALÓS, 2015; MAGIORAKOS et al., 2012).

*Pseudomonas aeruginosa* é uma classe de bacilos gram-negativos, que faz parte da família *Pseudomonadaceae* (SILBY et al., 2011), com capacidade de acarretar diversas infecções, sendo a grande maioria em hospitais na forma de infecções nosocomiais (BARBIER et al., 2013). Este microrganismo é considerado um dos mais resistentes a antibióticos que se tem conhecimento, e como consequência encontra-se uma dificuldade muito grande em exterminar as doenças causadas por este agente (HIRSCH; TAM, 2010).

Estudos apontam que os principais causadores dessa resistência seriam alguns mecanismos intrínsecos, adquiridos e adaptativos (BREIDENSTEIN et al., 2011). A resistência intrínseca é uma característica das bactérias de reduzir a eficiência de determinado antibiótico através de características funcionais ou estruturais (BLAIR et al., 2015). Sobre este mecanismo, *P. aeruginosa* revelou sua resistência devido à baixa permeabilidade de sua membrana, efluxo ativo e enzimas capacitadas para desativar estes mecanismos (BREIDENSTEIN et al., 2011).

A resistência adquirida se deve à mutações dos genes, ou à obtenção de genes de resistência pela troca de material genético entre bactérias (MUNITA, ARIAS, 2016).

Já a resistência adaptativa diz respeito a alterações na expressão gênica e proteica em algumas bactérias, que garantem uma maior chance de sobrevivência à ação dos antibióticos (SANDOVAL - MOTTA, ALDANA, 2016). Em *P. aeruginosa*, esta resistência se apresenta a partir da criação de um biofilme e a originação de células altamente resistentes (TAYLOR et al., 2014).

Os carbapenêmicos são uma classe de fármacos administrados para tratar infecções hospitalares, principalmente graves, por bacilos gram-negativos (LOUREIRO; ROQUE; RODRIGUES, 2016). Porém a resistência de *P. aeruginosa* ao tratamento com carbapenêmicos tem se tornado cada vez mais comum em hospitais, especialmente pela formação de metalo- $\beta$ -lactamases, enzimas catalisadoras do anel beta-lactâmico, fazendo com que o antibiótico deixe de exercer sua função de impedir a síntese da parede celular das bactérias (NEVES, 2011).

Com a disseminação das metalo- $\beta$ -lactamases e o aumento de sua frequência nos microrganismos, o tratamento com antibióticos para bactérias multirresistentes tem se tornado cada vez mais difícil, e a criação de novos antibióticos é complexa e lenta. Por este motivo estão sendo estudadas novas opções terapêuticas para o

combate destes tipos de infecções, em especial infecções por *Pseudomonas aeruginosa*, como por exemplo a inibição de *quorum sensing*, inibição da lectina, estratégia de vacina e o uso de nanopartículas (CHATTERJEE et al., 2016; HURLEY et al., 2012).

## 2 MÉTODOS

Trabalho baseado em pesquisas bibliográficas, em sites como: Scielo (*Scientific Electronic Library Online*), PubMed e Google Acadêmico, e foram selecionados artigos publicados entre os anos de 2010 e 2019, visando encontrar artigos que tenham forte embasamento a respeito dos temas, com a ajuda de palavras-chaves como resistência bacteriana, bactérias multirresistentes e *Pseudomonas aeruginosa*, utilizando o método narrativo.

## 3 DESENVOLVIMENTO

Chamamos de bactérias, organismos de tamanhos variados que podem chegar a ter cerca de 9 milímetros ou micro-organismos unicelulares e procariontes, que possuem a capacidade de se multiplicar por meio de divisão simples, e estão disponíveis em todo meio ambiente, inclusive estão presentes nos seres humanos (AIRES; ASENSI, 2018).

Há milhares de anos atrás, as pessoas tratavam as infecções existentes na época por meios naturais, através de elementos como por exemplo plantas e sais. A partir do século XVI, começaram a ser produzidas drogas medicinais através de métodos laboratoriais, porém foi apenas no século XX que se iniciaram as descobertas dos antibióticos (OLIVEIRA; PINTO, 2018).

Quando se fala sobre antibióticos, deve-se sempre lembrar que são substâncias que podem ter origem tanto natural, quanto sintética, e que possui a capacidade de estacionar o crescimento de fungos e bactérias ou até mesmo causar a morte dos mesmos. Além disso, os antibióticos podem ser caracterizados como bacteriostáticos, quando conseguem impedir o crescimento microbiano, ou como bactericidas, quando levam a bactéria à morte (WALSH., 2003).

O significado de antimicrobianos é divergentes em relação ao dos antibióticos,

segundo alguns autores. Para eles, entende-se como antimicrobianos, substâncias obtidas de maneira sintética, que possuem como característica, prevenir proliferação de microrganismos e agentes infecciosos ou levar estes agentes a morte a fim de impossibilitar um possível alastramento da infecção (CARVALHO, 2012).

A partir das bactérias, e da necessidade de combatê-las, surgiu o que chamamos de resistência bacteriana a antibióticos, que nos dias de hoje vem sendo uma questão grave a nível global de saúde pública (SILVA et al., 2020). Em 2015, agências européias mostraram que cerca de 13,7% dos pacientes infectados por *P. aeruginosa* apresentaram resistência a ao menos três grupos de antibióticos, enquanto 5,5% apresentaram resistência aos cinco grupos de antibióticos sob vigilância (MENDES, 2019). A resistência aos antimicrobianos poderá ser determinada a partir de testes *in vitro*, como o Teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA, Figura 1) (ANVISA, 2003).

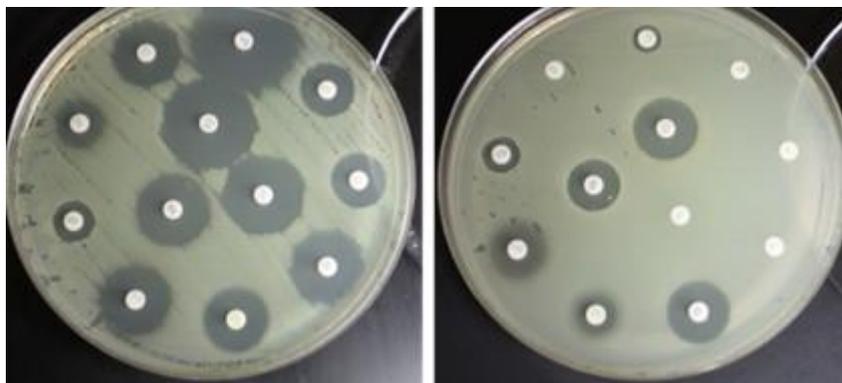
Este problema ficou ainda mais explícito, quando no último trimestre de 2017 a Organização Mundial de Saúde (OMS) alertou que a resistência bacteriana é considerada uma emergência global de saúde, por aumentar o tempo das internações, além de elevar os custos dos tratamentos e principalmente por tornar ainda maior o número de mortes relacionados a doenças infecciosas, comprometendo o progresso da medicina moderna (HARBARTH et al., 2015). Além disso, a OMS atribuiu o aparecimento da resistência bacteriana à utilização de antibióticos de maneira inapropriada e descontrolada (MCCULLOUGH et al., 2017).

As bactérias resistentes começaram a aparecer, alguns anos após o início da utilização da penicilina, que foi o primeiro antibiótico utilizado de maneira abrangente, descoberto pelo cientista britânico Alexander Fleming (OLIVEIRA; PINTO, 2018). Após este marcante momento, outros antibióticos começaram a ser criados, a chamada antibioticoterapia foi se tornando cada vez mais necessária para o combate a infecções bacterianas, sendo nos dias de hoje, a classe de fármacos mais prescrita em todo o mundo (INFARMED, 2011).

A partir do momento em que se criou uma relação bactéria-antibiótico, as bactérias iniciaram um processo de criação de mecanismos de defesa para conseguirem sobreviver aos antibióticos. No momento em que uma bactéria desenvolve vários mecanismos de defesa a vários antibióticos, ela passa a ser

chamada de bactéria multirresistente (OLIVEIRA; PINTO, 2018).

**Figura 1** - Teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA)



Fonte: Brigl e Albano, (2011).

*Pseudomonas aeruginosa* é um bacilo descrito por Werner Schroeter em 1972, pertencente à ordem Pseudomonadales, à família Pseudomonadaceae e ao gênero *Pseudomonas* (OZEN et al., 2013). Apresenta como característica ser uma bactéria gram-negativa, aeróbia estrita, composta por bastonetes com capacidade móvel graças aos seus flagelos polares e as suas microfibrilas proteicas denominadas pili. A *P. aeruginosa*, se multiplica em ambientes úmidos, e por não apresentar uma nutrição muito específica, possui a capacidade de se nutrir em diversos tipos de ambientes (FUJITANI; MOFFETT; YU, 2017).

Esta bactéria foi definida como oportunista, devido a sua capacidade de se tornar patogênica em pessoas imunossuprimidas (BARBIER et al., 2013). A patogênese da *P. aeruginosa*, está muito associada a pacientes que apresentam queimaduras, fibrose cística (FC), e os internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI), que necessitam do auxílio de respiração mecânica (ALASIL et al., 2015).

Os carbapenêmicos estão inseridos em um grupo de antibióticos da classe dos  $\beta$ -lactâmicos que são utilizados em intervenções terapêuticas contra infecções bacterianas graves que foram ocasionadas por bactérias resistentes à penicilina e cefalosporina, por exemplo (SANTOS et al., 2013).

Recentemente, a OMS relacionou a bactéria *P. aeruginosa* resistente a carbapenêmicos entre as três espécies bacterianas, onde existe uma necessidade urgente de desenvolvimento de novos antibióticos para o tratamento de infecções (TACCONELLI et al., 2017). A resistência da *P. aeruginosa* não se limita somente a

uma classe de antibióticos, mas abrange uma variedade deles, incluindo os aminoglicosídeos, quinolonas, polimixinas e  $\beta$ -lactâmicos (MORITA et al., 2014).

A classificação da resistência bacteriana depende do padrão de resistência, e por isso as cepas podem ser MDR ou multirresistentes, XDR ou extensivamente resistentes e PDR ou panresistentes. Determina-se que uma bactéria é multirresistente, quando ela é resistente a no mínimo três classes de antibióticos, para ser extensivamente resistente, a bactéria deve ser resistente a praticamente todas as classes de antibióticos, com exceção de no máximo duas classes, já bactérias panresistentes, são aquelas resistentes a todos os antibióticos testados, sem exceção (MENDES, 2019).

Pode-se destacar, como instrumentos de combate aos antibióticos pela *P. aeruginosa*, resistência intrínseca, resistência adquirida e resistência adaptativa. (CULYBA et al., 2015). A resistência intrínseca se dá pela diminuição da permeabilidade da membrana externa, as bombas de efluxo que retiram os antibióticos das células e a produção de enzimas que possuem a capacidade de inativar antibióticos. A resistência adquirida ocorre através da chamada transferência horizontal de genes ou pelas mudanças mutacionais. Por fim, a resistência adaptativa compreende a formação de um biofilme que é utilizado como barreira de difusão, que impede o acesso dos antibióticos às células bacterianas (BREIDENSTEIN et al., 2011).

### **3.1 Resistência a Antibióticos Intrínseca**

#### **3.1.1 Permeabilidade da Membrana Externa**

A maior parte dos antibióticos utilizados contra *P. aeruginosa* devem conseguir atravessar a membrana celular para conseguir alcançar o alvo e obter o efeito desejado (COSTA et al., 2016). Os antibióticos hidrofílicos conseguem ultrapassar a membrana externa através de difusão passiva, que ocorre por porinas ou Omps (Outer membrane proteins). Quando ocorre uma diminuição da permeabilidade da membrana externa, isso se dá por mudanças nas estruturas ou perda total dessas porinas, levando a uma dificuldade de penetração de alguns fármacos, como por exemplo os  $\beta$ -lactâmicos e as quinolonas, ou até

impermeabilidade completa dessa membrana externa às drogas (LI et al., 2012).

### 3.1.2 Sistema de Efluxo

As chamadas bombas de efluxo bacteriano, apresentam um papel de extrema importância na ejeção de substâncias tóxicas de dentro para fora da célula. Estas são divididas em cinco famílias: RND ou família de divisão de modulação de resistência; MFS ou superfamília de facilitadores principais, ABC ou superfamília de cassete de ligação de ATP, SMR ou família de pequenas resistências a múltiplas drogas e MATE ou família de extrusão de compostos tóxicos e multidrogas (SUN et al., 2014).

Proteínas da família RND em especial, são transportadoras tanto da membrana citoplasmática, quanto da membrana externa, funcionando como canais de porinas, sendo de extrema importância na resistência bacteriana a antibióticos em *P. aeruginosa* (DAURY et al., 2016). Em determinadas cepas de *P. aeruginosa* pôde ser observada uma superexpressão de diversas bombas de efluxo, aumentando ainda mais a resistência a antibióticos (CABOT et al., 2011).

Um método terapêutico para o tratamento para *P. aeruginosa* é a utilização de inibidores da bomba de efluxo, como por exemplo a Fenilalanina-arginina- $\beta$ -naftilamida (PA $\beta$ N), que além de inibir a bomba, também é capaz de aumentar a permeabilidade das membranas externas (LAMERS et al., 2013).

### 3.1.3 Enzimas Inativadoras de Antibióticos

Quando falamos em resistência bacteriana intrínseca, uma das mais importantes formas de resistência, é a produção de enzimas que são capazes de modificar ou quebrar os antibióticos, podendo inativa-los de maneira irreversível. Temos como exemplo as  $\beta$ -lactamases, o cloranfenicol acetiltransferases e as enzimas modificadoras de aminoglicosídeos (SANTAJIT; INDRAWATTANA, 2016).

A enzima  $\beta$ -lactamase é responsável pela quebra estrutural dos antibióticos. Neste caso ocorre a hidrólise de derivados  $\beta$ -lactâmicos, abrindo a configuração do anel, impossibilitando o antibiótico de se ligar ao sítio de ligação onde ficam localizados os receptores, inibindo então a síntese da parede celular da bactéria, tornando-a resistente aos antibióticos denominados  $\beta$ -lactâmicos (SANTAJIT;

INDRAWATTANA, 2016).

Pode-se dividir as  $\beta$ -lactamases em quatro classes denominadas em: A, B, C e D, e essas classificações ocorrem de acordo com suas sequências de aminoácidos. As classes A, C e D fazem a hidrólise de  $\beta$ -lactâmicos por um sítio ativo de serina, já a classe B, são denominadas metaloenzimas, e estas precisam de íons de zinco bivalentes para que a reação de hidrólise dos  $\beta$ -lactâmicos ocorra (BUSH; JACOB, 2010).

## 3.2 Resistência a Antibióticos Adquirida

### 3.2.1 Resistência por Mutações

As mutações, possuem a capacidade de diminuir a absorção de determinados antibióticos, causar mudanças nos alvos de antibióticos e uma superexpressão das bombas de efluxo e de enzimas que são capazes de tornar os antibióticos inoperantes, tornando possível a sobrevivência das bactérias em meio a presença de antibióticos (MUNITA; ARIAS, 2016).

Quando mutações espontâneas ocorrem, elas possibilitam mudanças na expressão ou na função de determinadas porinas, essas porinas são canais presentes nas membranas celulares que permeiam difusões de antibióticos denominados hidrofílicos, diminuindo desta forma a permeabilidade da membrana e aumentando a resistência bacteriana aos antibióticos (FERNANDES; HANCOCK, 2012).

Um exemplo de resistência por mutações ocorre quando se tem uma deficiência de OprD, que é uma porina específica de *P. aeruginosa*, resultando em um nível elevado de resistência aos carbapenêmicos, principalmente ao imipenem (FANG et al., 2014). As principais formas de resistência da *P. aeruginosa* ao antibiótico imipenem são a perda de porinas, proteínas de ligação às penicilinas com pouca afinidade aos carbapenêmicos, a superexpressão das bombas de efluxo, além da hidrólise enzimática (NEVES, 2010).

### 3.2.2 Transferência Horizontal de Genes

Bactérias conseguem obter genes de resistência a antibióticos através de um

mecanismo chamado transferência horizontal de genes da mesma espécie de bactéria ou de espécies diferentes (BREIDENSTEIN et al., 2011). Pode-se destacar como principais mecanismos de transferência: a transformação, transdução e conjugação (ARBER, 2014).

A transferência de genes por transformação ocorre quando uma bactéria consegue captar fragmentos de DNA de uma outra bactéria que estão livres no meio. A transferência por transdução ocorre quando a bactéria funciona como hospedeira para um vírus, ou seja, quando um vírus transporta uma porção de DNA de uma bactéria para a outra. Já a transferência por conjugação se dá quando bactérias, sejam elas da mesma espécie ou de espécies diferentes, entram em contato e desta forma transferem o material genético uma para a outra (BAPTISTA, 2013).

### 3.3 Resistência Adaptativa

Alterações na expressão gênica e/ou na expressão de proteínas podem elevar a capacidade de uma bactéria sobreviver à ação de um antibiótico, caracterizando então a resistência adaptativa. Esta resistência ocorre em consequência a um estímulo do ambiente, e pode ser revertida com a retirada do estímulo (SANDOVAL-MOTTA; ALDANA, 2016).

A resistência adaptativa em *P. aeruginosa* pode ser bem observada no desenvolvimento de um biofilme e de células resistentes, que levam a infecções difíceis de serem curadas e a um prognóstico desgradável principalmente em pacientes que sofrem com a fibrose cística (TAYLOR et al., 2014). O biofilme é a junção de vários microrganismos que se unem a determinada superfície, e se inserem em uma matriz composta por substâncias poliméricas extracelulares (EPSs), que contam com proteínas, DNA extracelular também conhecido como eDNA, metabólitos entre outras (DAS et al., 2013).

Existe também a produção de células bacterianas denominadas persistentes, estas também dificultam muito a terapêutica de infecções ocasionadas pela bactéria *P. aeruginosa*. Estas células bacterianas persistentes são variações fenotípicas que, ao contrário das células bacterianas resistentes, não são geneticamente resistentes aos antibióticos, porém detêm uma tolerância a grandes concentrações dos mesmos

(BALABAN et al., 2013).

As cefalosporinas, são uma classe de fármacos antibacterianos pertencente aos  $\beta$ -lactâmicos, utilizados como principais métodos terapêuticos para o combate à infecções por *P. aeruginosa*, porém, existem inúmeras narrativas que indicam um número alarmante de cepas resistentes a esses antibióticos (BORGES et al., 2012). A alternativa encontrada foi a prescrição e utilização de carbapenêmicos, também incluídos no grupo dos  $\beta$ -lactâmicos, porém da mesma forma que as cefalosporinas, esta classe de antibióticos, também apresentou uma crescente, em relação à resistência bacteriana (ARAÚJO et al., 2016).

### **3.4 Fármacos Disponíveis Atualmente e Principais Mecanismos de Resistência**

#### **3.4.1 $\beta$ -lactâmicos e Doripenem**

Os  $\beta$ -lactâmicos estão entre as classes de antibióticos mais utilizados contra infecções por *P. aeruginosa*, e como já citado anteriormente, a resistência atua através de três mecanismos que podem atuar de maneira conjunta ou isolada entre si: alterações na membrana externa, incluindo as bombas de efluxo; produção de enzimas inativadoras de antibióticos; e as alterações de enzimas de ação (proteína de ligação à penicilina - PBP) (KARAM et al., 2016).

#### **3.4.2 Aminoglicosídeos**

Normalmente, as bactérias que possuem características anaeróbias, apresentam determinada resistência aos aminoglicosídeos pelo fato de não possuírem um sistema capaz de aprisionar o antibiótico. Mutações cromossômicas e alterações na membrana externa também colaboram para a resistência aos aminoglicosídeos. Em *P. aeruginosa*, algumas proteínas que são secretadas nos biofilmes também contribuem para a resistência (ZHU et al., 2013, PENESYAN, GILLINGS, PAULSEN, 2015).

### 3.4.3 Macrolídeos e Lincosaminas

Tanto os macrolídeos quanto as lincosaminas possuem como característica serem hidrofóbicos, ou seja, apresentam dificuldade de passar pela membrana externa, fazendo então com que bacilos que sejam gram negativos sejam naturalmente mais resistentes (PARRA, GIOVANETTI, HERNÁNDEZ, 2016).

### 3.4.4 Fluorquinolonas

A partir dos anos 90, começou a ser descrita a resistência da *P. aeruginosa* à fluorquinolona (FQRP) (ZHANG et al., 2013). A principal forma de resistência está ligada a expressão de bombas de efluxo, e outros estudos apontam que em *P. aeruginosa* as fluorquinolonas conseguem penetrar os biofilmes, porém não se difundem de maneira expansiva, pois a matriz consegue consumir estes fármacos (SANTAJIT, INFRAWATTANA, 2016, MAH, 2012).

### 3.4.5 Plazomicina e POL7001

Estes dois, são considerados antibióticos mais recentes, que buscam combater também as infecções por *P. aeruginosa*. Foram criados a partir da ineficiência de antibióticos já existentes pelo elevado número de cepas multirresistentes (CHATTERJEE et al., 2016).

A plazomicina por exemplo, consegue ser resistente a diversas enzimas que fazem a modificação de aminoglicosídeos (COX et al., 2018). Também manifestou uma ótima eficácia contra bactérias tanto gram-positivas quanto gram-negativas em atividade *in vitro*, agindo também contra *P. aeruginosa* multiresistentes (WALKTY et al., 2014).

POL7001 faz parte da família de antibióticos PEM (moléculas miméticas de epítipo de proteínas). Estudos mostraram que cepas de *P. aeruginosa* multirresistentes em pacientes com fibrose cística, tratados com POL7001 obtiveram resultados significativos (CIGANA et al., 2016).

### 3.5 Novas Opções Terapêuticas para o Tratamento de Infecções por *P. aeruginosa*

A utilização errada e excessiva de antibióticos fez com que surgissem as bactérias multirresistentes, que nada mais são que cepas bacterianas resistentes à atuação de diferentes antibióticos e que não conseguem ser tratadas pelos medicamentos convencionais (VENTOLA, 2015).

Com a falta de antibióticos eficazes às infecções e com a dificuldade e demora para a criação de novos medicamentos, buscas por novas estratégias terapêuticas contra infecções por *P. aeruginosa* vêm sendo priorizadas cada dia mais. Estas novas abordagens podem atuar de maneira conjunta com outras terapias já utilizadas ou isoladamente (CHATTERJEE et al., 2016).

Dentre as novas estratégias terapêuticas que vêm sendo estudadas e utilizadas temos a inibição de quorum sensing, inibição de lectinas bacterianas, quelação de ferro, terapias fágicas, aplicação de vacinas, nanopartículas, entre outros (CHATTERJEE et al., 2016, HURLEY et al., 2012).

#### 3.5.1 Inibição do *Quorum Sensing*

O *quorum sensing* é um meio de sinalização utilizado pela célula bacteriana para administrar a formação de fatores de virulência em bactérias consideradas patológicas (MACKNESS, MACKNESS, 2014). Estes inibidores possuem como estratégia, afetar a ligação existente entre o grupamento de biofilmes (HARRIOTT, 2019).

Em *P. aeruginosa*, estudos mostraram que a inibição do *quorum sensing* pode ser uma ótima alternativa para o tratamento de infecções, pois além de estacionar o desenvolvimento de biofilmes, diminui também os fatores de virulência, e apresenta baixa probabilidade de desenvolver resistência bacteriana (REUTER et al., 2016).

Um dos medicamentos já testados foi a azitromicina, um inibidor de *quorum sensing* que apresentou resultados positivos em pacientes portadores de FC, que apresentam complicações pulmonares crônicas ocasionadas pela bactéria *P. aeruginosa* (IMPERI et al., 2014, VAN DELDEN et al., 2012).

### 3.5.2 Inibição de Lectinas Bacterianas

As lectinas, são proteínas ou glicoproteínas, expressas na membrana externa das bactérias, que auxiliam na aderência de bactérias ao tecido alvo desejado (KILPATRICK, 2002). Inibir a lectina, pode ser de extrema utilidade para o tratamento de infecções por *P. aeruginosa*, por apresentar estabilidade elevada, e pequenas chances de aparecimento de resistência bacteriana aos antibióticos (KRACHLER, ORTH, 2013).

A função principal dos inibidores de lectina, é inibir a interação entre a lectina e a superfície da célula alvo, extinguindo desta forma a sua função (GRISHIN et al., 2015). Alguns outros estudos também demonstram a capacidade da inibição das lectinas, estacionar também a formação do biofilme em *P. aeruginosa* (SUSILOWATI et al., 2017).

### 3.5.3 Quelação por Ferro

O elemento ferro é de extrema importância para o desenvolvimento das bactérias, pois está presente na produção de energia celular, replicação de materiais genéticos, bem como no transporte de elétrons (MA et al., 2015).

*P. aeruginosa* produz a pioverdina, que é considerada um sideróforo atuante na captação de ferro de áreas extracelulares (CORNELIS, DINGEMANS, 2013). Estudos mostraram relações entre o metabolismo do ferro e infecções crônicas, por isso diminuir os níveis de ferro extracelular ou até mesmo impedir a absorção do elemento ferro por *P. aeruginosa* pode ser uma alternativa de tratamento deste tipo de infecção (O'MAY et al., 2009).

### 3.5.4 Terapia Fágica

Os fagos ou também chamados de bacteriófagos foram descobertos em 1915 por Frederick Twort, porém a ideia de terapia fágica apareceu em 1917 através do microbiologista Félix d'Herelle (WITTEBOLE et al., 2014).

Dentre os benefícios da utilização da terapia fágica, tem-se a replicação local da infecção, elevada singularidade em atingir bactérias, efeitos colaterais menores se

comparado a outros métodos terapêuticos, efeito bactericida sob bactérias resistentes entre outros (LY-CHATAIN, 2014).

Muitos estudos vêm sendo realizados ao longo dos anos para determinar a real eficiência dos bacteriófagos em infecções por *P. aeruginosa*. Até o ano de 2015, 137 fagos haviam sido sinalizados ao gênero *Pseudomonas* (PIRES et al., 2015).

Uma outra vantagem da utilização da terapia fágica, se comparada ao tratamento com os antibióticos tradicionais, é que como alguns microrganismos possuem a aptidão de desenvolver biofilmes, a terapia fágica consegue agir contra os biofilmes de alguns deles, como por exemplo da *P. aeruginosa* (WATERS et al., 2017).

Outro benefício da terapia fágica, é a capacidade de modificação genética dos fagos, para que estes consigam munir bactérias de agentes antimicrobianos, gerando desta forma um tratamento com maior eficiência (PIRES et al., 2016). Foi observada também a possibilidade dos fagos modificados geneticamente serem utilizados juntamente com os antibióticos para uma terapia mais eficaz (CITORICK et al., 2014).

### 3.5.5 Vacinas

Apesar de ainda não existir nenhuma vacina aprovada e licenciada para ser utilizada contra *P. aeruginosa*, seria de grande valia esta possibilidade pois a vacina visa precaver o estabelecimento de infecções (PRIEBE; GOLDBERG, 2014).

Em pacientes com FC, a utilização da terapia vacinal é ainda mais complicada, pois o pulmão destes pacientes possui uma camada modificada de muco, fagocitose afetada, bem como respostas inflamatórias não reguladas, prejudicando o bom funcionamento de vacinas (GRIMWOOD et al., 2015; HARTL et al., 2012).

### 3.5.6 Nanopartículas

As nanopartículas possuem um tamanho inferior a 100 nm e têm sido aplicadas em várias ocasiões químicas e biológicas (JEEVANANDAM et al., 2018). Estas nanopartículas podem apresentar uma facilidade na penetração de membranas bacterianas, conseguem estacionar a formação de biofilmes, além de serem ótimos carreadores para antibióticos (WANG et al., 2017).

Para infecções por *P. aeruginosa*, nanopartículas específicas vêm sendo

estudadas, que são aquelas recheadas com antimicrobianos e agentes metálicos (CHATTERJEE et al., 2016). Um exemplo são as nanopartículas de prata, em que íons de prata conseguem parar sistemas como a síntese de DNA (WANG et al., 2017).

Um fato que gera desvantagem na utilização das nanopartículas é a sua toxicidade nos seres humanos (ELSAESSER; HOWARD, 2012). Para o tratamento de infecções pulmonares, por exemplo, a utilização de nanopartículas pode levar a uma inflamação pulmonar, levando a complicações cardiovasculares (MILLER et al., 2017).

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de antibióticos deve ser feita sempre de maneira consciente e com a prescrição de profissionais habilitados para tal orientação, impedindo desta forma com a propagação da resistência bacteriana a antibióticos e das superbactérias. A *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria, que por ter diversos mecanismos de resistência, continua sendo um grande desafio no que diz respeito ao tratamento de infecções por ela causadas. Novos antibióticos vêm sendo desenvolvidos e testados nos últimos anos, porém como a *P. aeruginosa* tem se mostrado capaz de desenvolver ou até mesmo adquirir resistência também a esses novos medicamentos, e com a demora no desenvolvimento de novos antibióticos, novas técnicas terapêuticas não antibióticas têm sido estudadas. Porém estas alternativas são ainda pouco utilizadas devido ao seu alto custo, falta de informações mais específicas, efeitos colaterais, e principalmente devido à preocupação com a segurança e saúde do paciente. Por tudo isso, os temas resistência bacteriana a antibióticos, superbactérias e *P. aeruginosa*, ainda devem ser amplamente discutidos e estudados pelas gerações subsequentes.

#### REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão; Norma Aprovada Oitava Edição v. 23, n.1, p.25, **NCCLS**., 2003.

AIRES, C. A. M., ASENSI, M. D. Resistência Bacteriana aos Antibióticos. **Biblioteca de Ciências Biomédicas/FIOCRUZ-RJ**, 2. ed. 2018.

ALASIL, S. M., et al. Inhibition of quorum sensing-controlled virulence factors and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* by culture extract from novel bacterial

species of paenibacillus using a rat Model of Chronic Lung Infection. **International Journal of Bacteriology**, v.15, 2015.

ALÓS, J. I. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. **Enferm Infecc Microbiol Clin**, 2015.

ARAÚJO, C. F. M. et al. Detection of Carbapenemase Genes in Aquatic Environments in Rio de Janeiro, Brazil. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, v. 60, n. 7, p.4380-4383, 2016.

ARBER, W. Horizontal gene transfer among bacteria and its role in biological evolution. **Life (Basel)**, v.4, p.217-224, 2014.

BALABAN, N. Q., et al. A problem of persistence: still more questions than answers? **Nat Rev Microbiol**, v.11, p.587-591, 2013.

BAPTISTA, M. G. F. M. Mecanismos de Resistência aos Antibióticos. Monografia (Dissertação de Mestrado) - Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Lisboa, 2013.

BARBIER, F., et al. Hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: recent advances in epidemiology and management. **Curr Opin Pulm Med**, p.216-228, 2013.

BERTONCHELI, C. M., HONER, R. Uma Revisão Sobre Metallo-B-lactamases. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, n.4, 2008.

BREIDENSTEIN, E. B., et al. Pseudomonas aeruginosa: all roads lead to resistance. **Trends Microbiol**, v.19, p.419-426, 2011.

BRITO, M. A., CORDEIRO, B. C. Necessidade de Novos Antibióticos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.48, n.4, p.247-249, 2012.

BRIGL, M., ALBANO, E. Testing the resistance of microbes in the lab. **Clinical Microbiology Laboratory at the Brigham and Women's Hospital, Boston**, 2011.

BORGES, J. C. M., et al. Análise do uso e da resistência bacteriana aos antimicrobianos em nível hospitalar. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 93, n.2, p.128-135, 2012.

BUSH, K., JACOBY, G. A. Updated functional classification of beta-lactamases. **Antimicrob Agents Chemother**, v.54, p.969-976, 2010.

CABOT, G., et al. Overexpression of AmpC and efflux pumps in Pseudomonas aeruginosa isolates from bloodstream infections: prevalence and impact on resistance in a Spanish multicenter study. **Antimicrob Agents Chemother**, v.55, p.1906-1911, 2011.

CARNEIRO, M. A. P. Conhecimento dos Alunos de Odontologia Sobre Antibióticos: Construção de um Questionário. **Repositório Institucional UFSC**, 2019.

CARVALHO, L. D. de. Antimicrobianos. [S.l.], p.61, 2012.

CHATTERJEE, M., et al. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and alternative therapeutic options. **Int J Med Microbiol**, v.306, p.48-58, 2016.

CIGANA, C., et al. Efficacy of the Novel Antibiotic POL7001 in Preclinical Models of *Pseudomonas aeruginosa* Pneumonia. **Antimicrob Agents Chemother**, v.60, p.4991-5000, 2016.

CLARDY, J., CURRIE, C. R., FISCHBACH, M. A. The natural history of antibiotics. **National Library of Medicine**, 2009.

CORNELIS, P., DINGEMANS, J. *Pseudomonas aeruginosa* adapts its iron uptake strategies in function of the type of infections. **Front Cell Infect Microbiol**, v.3, p.75, 2013.

COSTA, A. L. P., et al. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, v.7, n.2, p.45-57, 2017.

COX, G., et al. Plazomicin Retains Antibiotic Activity against Most Aminoglycoside Modifying Enzymes. **ACS Infect Dis**, v.4, p. 980-987, 2018.

CULYBA, M. J., et al. Targets for Combating the Evolution of Acquired Antibiotic Resistance. **Biochemistry**, v.54, p.3573-3582.

DAS, T., et al. The roles of extracellular DNA in the structural integrity of extracellular polymeric substance and bacterial biofilm development. **Environ Microbiol Rep**, v.5, p.778-786, 2013.

DAURY, L., et al. Tripartite assembly of RND multidrug efflux pumps. **Nat Commun**, v.7, p.10731, 2016.

ELSAESSER, A., HOWARD, C. V. Toxicology of nanoparticles. **Adv Drug Deliv Rev**, v.64, p.129-137, 2012.

FERNANDEZ, L., HANCOCK, R. E. Adaptive and mutational resistance: role of porins and efflux pumps in drug resistance. **Clin Microbiol Rev**, v.25, p.661-681, 2012.

FIGUEIREDO, A.C.F., et al. *Pseudomonas Aeruginosa*: Panorama do Perfil de Resistência aos Carbapenêmicos no Brasil. **Brazilian Journal of Development**, v.7, n.1, p.9661 - 9677, 2021.

FUJITANI, S., MOFFETT, K. S., YU, V. L. *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobe**, 2017.

FURTADO, D. M. F., et al. Consumos de Antimicrobianos e o Impacto na Resistência Bacteriana em um Hospital Público do Estado do Para, Brasil, de 2012 a 2016. **Revista Pan - Amazônica de Saúde**, v.10, 2019.

GRIMWOOD, K., et al. Vaccination against respiratory *Pseudomonas aeruginosa* infection. **Hum Vaccin Immunother**, v.11, p.14-20, 2015.

GRISHIN, A. V., et al. *Pseudomonas Aeruginosa* Lectins as targets for novel antibacterials. **Acta Naturae**, v.7, p.29-41, 2015.

HARBARTH, S., et al. Antimicrobial resistance: one world, one fight!. **Antimicrob Resist Infect Control**, 4:49, 2015.

HARRIOTT, M. M. Biofilms and Antibiotics. **Reference Module in Biomedical Sciences**, 2019.

HARTL, D., et al. Innate immunity in cystic fibrosis lung disease. **J Cyst Fibros**, v.11, p.363-382, 2012.

HIRSCH, E. B., TAM, V. H. Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection on patient outcomes. **Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res**, p.441-451, 2010.

HURLEY, M. N., et al. Novel approaches to the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis. **Eur Respir J**, v.40, p.1014-1023, 2012.

IMPERI, F., et al. Antivirulence activity of azithromycin in *Pseudomonas aeruginosa*. **Front Microbiol**, v.5, p.178, 2014.

INFARMED. *Prontuário Terapêutico 10*. Lisboa, INFARMED – Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, IP / **Ministério de Saúde**, 2011.

JEEVANANDAM, J., et al. Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. **Beilstein J Nanotechnol**, v.9, p.1050-1074, 2018.

KARAM, G., et al. Antibiotic strategies in the of multidrug resistance. **Critical Care**, v.20, 2016.

KILPATRICK, D. C. Animal lectins: a historical introduction and overview. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v.1572, n.2, p.187-197, 2002.

KRACHLER, A. M., ORTH, K. Targeting the bacteria-host interface: strategies in anti-adhesion therapy. **Virulence**, v.4, p.284-294, 2013.

LAMERS, R. P., et al. The efflux inhibitor phenylalanine-arginine beta-naphthylamide (PAbetaN) permeabilizes the outer membrane of gram-negative bacteria. **PLoS One**, v.8, 2013.

LI, H., et al. Structure and function of OprD protein in *Pseudomonas aeruginosa*: from antibiotic resistance to novel therapies. **Int J Med Microbiol**, v.302, p.63-68, 2012.

LY-CHATAIN, M. H. The factors affecting effectiveness of treatment in phages

therapy. **Front Microbiol**, v.5, p.51, 2014.

LOUREIRO, R. J., ROQUE, F., RODRIGUES., A. T., et al. Uso de Antibióticos e as Resistências Bacterianas: Breves Notas Sobre a Sua Evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, v.34, n.1, p. 77 - 84, 2016.

MACKNESS, M., MACKNESS, B. Current Aspects of Paraoxonase-1 Research. **The HDL Handbook (Second Edition)**, p.273-291, 2014.

MAGIORAKOS, A. P., et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clin Microbiol Infect**, 2012.

MA, L., et al. Iron and zinc exploitation during bacterial pathogenesis. **Metallomics**, v.7, p.1541-1554, 2015.

MAH, T. Biofilm-specific antibiotic resistance. **Future Microbiology**, v.7, p.1061-1072, 2012.

MCCULLOUGH, A. R., et al. Antibiotics for acute respiratory infections in general practice: comparison of prescribing rates with guideline recommendations. **Med J Aust**, v.207, p.65-69, 2017.

MELPHINE, M. H. Biofilmes e Antibióticos. **Módulo de Referência em Ciências Biomédicas**, 2019.

MENDES, I. C. M. Opções de tratamento para *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente. **PEBMED**, 2019.

MILLER, M. R., et al. Inhaled nanoparticles accumulate at sites of vascular disease. **ACS Nano**, v.11, p.4542-4552, 2017.

MORITA, Y. et al. Responses of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials. **Front Microbiol**, v.4, p.1-8, 2014.

MUNITA, J. M., ARIAS, C. A. Mechanisms of antibiotic resistance. **Microbiol Spectr**, v.4, n.2, 2016.

NEVES, P. R., et al. *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes: um problema endêmico no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 4, 2011.

OLIVEIRA, L. M. A., PINTO, T. C. A. Resistência a Antibióticos e as Superbactérias. **Com Ciência - Revista Eletrônica de Jornalismo Científico**, 2018.

O'MAY, C. Y., et al. Iron-binding compounds impair *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation, especially under anaerobic conditions. **J Med Microbiol**, v.58, p.765-773, 2009.

OZEN, A. I., et al. Ussery Setting the *Pseudomonas* Genre: Where do we draw the

line Azotobacter?. **Ecol Microb**, v.63, p.239-248, 2013.

PAIM, R. S. P., LORENZINI, E. Estratégias Para Prevenção da Resistência Bacteriana: Contribuições para a Segurança do Paciente. **Revista Cuidarte**, v.5, n.2, 2014.

PANESYAN, A., GILLINGS, M., PAULSEN, I. T. Antibiotic Discovery: Combatting Bacterial Resistance in Cells and in Biofilm Communities. **MDPI**, v.20, p.5286-5298, 2015.

PANG, Z., CHENG, Z. Antibiotic Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. **National Library of Medicine**, v.37, n.1, p.177 - 192, 2019.

PARRA, G. I. M., GIOVANETTI, M. C. Y., HERNANDEZ, A. Z. Phenotype Resistance to Methicillin, Macrolides and Lincosamides in *Staphylococcus Aureus*, Isolated in a Hospital in Valledupar, Colombia. **Rev. Cienc. Salud**, v.14, n.2, p.223-230, 2016.

PESANTEZ, D, I, E., SANCHEZ, A. F. E. Resistência Enzimática em *Pseudomonas aeruginosa*, Aspectos Clínicos e de Laboratório. **Revista Chilena de Infectologia**, v.38, n.1, 2021.

PILTCHER, O. B., et al. Como Evitar o Uso Inadequado de Antibióticos nas Infecções de Vias Aéreas? Posição de um Painel de Especialistas. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v.84, n.3, 2018.

PIRES, D. P., et al. Genetically engineered phages: a review of advances over the last decade. **Microbiol Mol Biol Rev**, v.80, p.523-543, 2016.

PIRES, D. P., et al. Phage therapy: a step forward in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. **J Virol**, v.89, p.7449-7456, 2015.

PRIEBE, G. P., GOLDBERG, J. B. Vaccines for *Pseudomonas aeruginosa*: a long and winding road. **Expert Rev Vaccines**, v.13, p.507-519, 2014.

REIS, A. A. S., SANTOS, R. S. Microbiologia básica. Aparecida de Goiânia: Faculdade Alfredo Nasser, 2016.

REUTER, K., et al. Interfering with Bacterial Quorum sensing. **Perspect Medicin Chem**, v.8, p.1-15, 2016.

SANDOVAL-MOTTA, S., ALDANA, M. Adaptive resistance to antibiotics in bacteria: a systems biology perspective. **Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med**, v.8, p.253-267, 2016.

SANTAJIT, S., INDRAWATTANA, N. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. **PubMed**, 2016.

SILBY, M. W., et al. *Pseudomonas* genomes: diverse and adaptable. **FEMS Microbiology Reviews**, v.35, p.652-680, 2011.

SILVA, R. A., et al. Resistência a Antimicrobianos: A formulação da resposta no âmbito da saúde global. **Saúde em Debate**, v.44, n.126, 2020.

SOUZA, V. P., et al. Avaliação do Conhecimento da População Sobre o Antibiótico Amoxicilina. **Publication UEPG**, v.25, n.2, 2019.

SUN, J., et al. Bacterial multidrug efflux pumps: mechanisms, physiology and pharmacological exploitations. **Biochem Biophys Res Commun**, v.453, p.254-267, 2014.

SUSILOWATI, H., et al. Royal jelly inhibits *Pseudomonas aeruginosa* adherence and reduces excessive inflammatory responses in human epithelial cells. **Biomed Res Int**, 2017, p.3191752, 2017.

TACCONELLI, E., et al. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. **World Health Organization**, p.1-7, 2017.

VAN DELDEN, C., et al. Azithromycin to prevent *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia by inhibition of quorum sensing: a randomized controlled trial. **Intensive Care Med**, v.38, p.1118-1125, 2012.

VENTOLA, C. L. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. **P T**, v.40, p.277-283, 2015.

WALKTY, A., et al. In vitro activity of plazomicin against 5,015 gram-negative and gram-positive clinical isolates obtained from patients in canadian hospitals as part of the CANWARD study, 2011–2012. **Antimicrob Agents Chemother**, v.58, p.2554-2563, 2014.

WALSH, C. Antibiotics: Actions, Origins, Resistance. **ASM**, Washington, 2003.

WANG, L., et al. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. **Int J Nanomedicine**, v.12, p. 1227-1249, 2017.

WATERS, E. M., et al. Phage therapy is highly effective against chronic lung infections with *Pseudomonas aeruginosa*. **Thorax**, v.72, p.666-667, 2017.

WITTEBOLE, X., et al. A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. **Virulence**, v.5, p.226-235, 2014.

ZHANG, L., et al. Antibiotic administration routes significantly influence the levels of antibiotic resistance in gut microbiota. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.57, p.3659-3666, 2013.

ZHU, Y-G., et al. Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.110, p.3435-3440, 2013.

# ALTERAÇÕES GENÉTICAS E COMPORTAMENTAIS ASSOCIADAS AO TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA (TEA) E A IMPORTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO PRECOCE

## GENETIC AND BEHAVIORAL CHANGES ASSOCIATED WITH AUTISTIC SPECTRUM DISORDER (ASD) AND THE IMPORTANCE OF EARLY DIAGNOSIS

Ana Carolina Bento<sup>1</sup>  
Andressa Megumi Niwa<sup>2</sup>

467

### RESUMO

Nos últimos dez anos, o avanço dos estudos mostra que o autismo é caracterizado como um conjunto de condições neurológicas e uma grande variedade de manifestações físicas e psicológicas. Esse transtorno é influenciado por vários fatores, como hereditários, genéticos e ambientais. Este estudo visa informar a sociedade sobre os sinais e sintomas do autismo e reforçar a importância do diagnóstico precoce. Desta forma, o presente estudo tem como objetivo identificar os possíveis genes mais fortemente associados ao autismo, métodos de diagnóstico que viabilize a detecção precoce do autismo e tratamentos que tragam a melhoria da qualidade de vida do autista. Para isso, foi realizada uma revisão bibliográfica sobre o tema utilizando artigos científicos publicados, preferencialmente, entre os anos de 2012 a 2023. Os sinais e sintomas do autismo podem ser observados já nos primeiros anos de vida, mas, na maioria dos casos, o diagnóstico ainda é tardio. Um tratamento precoce viabiliza a melhora dos sintomas e qualidade de vida do paciente. Durante as últimas décadas, houve identificação de genes associados ao autismo, como por exemplo *SLC6A4*, *NLGN4*, *SHANK1*, *SHANK2*, *SHANK3*, *PROSAP1*, *FOXP1*, *RELN*, *DYX1C1*, *ITGB3*, *RPL10* e *CHD8*. Estudos com testes moleculares são fundamentais para uma melhoria e rapidez no diagnóstico. A Análise Comportamental Aplicada consiste em analisar a relação do indivíduo com o ambiente e seus comportamentos e tem como objetivo a detecção prévia para um diagnóstico precoce. Apesar de não haver cura, o tratamento melhora a qualidade de vida do paciente, auxiliando no convívio e inclusão social.

**Palavras-chave:** autismo; transtorno do espectro autista; diagnóstico; genes.

### ABSTRACT

In the last ten years, advances in studies show that autism is characterized as a set of neurological conditions and a wide variety of physical and psychological manifestations. This disorder is influenced by several factors, such as hereditary, genetic and environmental. Therefore, the present study aims to identify the possible genes most strongly associated with autism, diagnostic methods that enable the early

---

<sup>1</sup> Ana Carolina Bento. Graduanda do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia – UniFil, Londrina, PR. E-mail: anacbento05@edu.unifil.br. <sup>2</sup>

Orientadora: Professora Dra. Andressa Niwa do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia – UniFil, Londrina, PR. E-mail: Andressa.niwa@unifil.br.

detection of autism and treatments that improve the quality of life of autistic people. To this end, a bibliographical review was carried out on the topic using scientific articles published, preferably, between the years 2012 to 2023. The signs and symptoms of autism can be observed in the first years of life, but, in most cases, the diagnosis is still late. Early treatment makes it possible to improve the patient's symptoms and quality of life. During the last decades, genes associated with autism have been identified, such as *SLC6A4*, *NLGN4*, *SHANK1*, *SHANK2*, *SHANK3*, *PROSAP1*, *FOXP1*, *RELN*, *DYX1C1*, *ITGB3*, *RPL10* and *CHD8*. Studies with molecular tests are essential for improving and speeding up diagnosis. Applied Behavioral Analysis (ABA) consists of analyzing the individual's relationship with the environment and their behaviors and aims to provide prior detection for early diagnosis. This study aims to inform society about the signs and symptoms of autism and reinforce the importance of early diagnosis. Although there is no cure, the treatment improves the patient's quality of life, helping with coexistence and social inclusion.

**Keywords:** autism; autism spectrum disorder; diagnosis; genes.

## 1 INTRODUÇÃO

O transtorno do espectro autista (TEA) é um conjunto de condições relacionadas ao neurodesenvolvimento sob a influências de vários outros fatores, tais como: genético, ambientais, imunológicos, neurológicos, hereditários e biológicos. Estas condições estão presentes desde o nascimento e se prolongam pela vida toda. Com o avanço da medicina, o TEA pode ser diagnosticado já na primeira infância, pois o processo de desenvolvimento de uma criança começa ainda na fase intrauterina onde já sofre processos diante de influências desses múltiplos fatores (SILVIA; MULICK, 2012).

Há vinte e cinco anos e de maneira tradicional, o autismo era considerado extremamente raro e também tinha uma diferenciação em subtipos, como ocorre em algumas síndromes. Uma “tríade” de deficiências era levada em consideração, onde os comportamentos eram baseados na interação social, comunicação e comportamento com outros indivíduos, e interesses restritivos e repetitivos (DOHERTY; HAYDON; DAVIDSON, 2021).

Estudos realizados nos últimos quarenta anos fez com que evoluísse bastante o entendimento do autismo e, o que antes era bastante desconhecido pela genética, hoje com um grande aumento das pesquisas sobre este transtorno já sabemos que o autismo também é um distúrbio altamente hereditário (RUTTER, 2011). Isso fez com que aumentasse também os interesses na parte da investigação por métodos de

biologia molecular, levando ao aumento de descobertas de genes envolvidos no autismo (VORSTMAN *et al.*, 2017).

Atualmente, a chamada tríade de deficiências, que caracteriza o autismo desde 1980, vem sendo substituída à medida que surgem novas evidências do agrupamento de sintomas e comportamentos. Hoje, inclui-se a influência de fatores ambientais e biológicos dos quais a mãe se expôs durante o período da gestação, além de um conjunto de outros sintomas que conceitualmente na rotina, não eram relacionados (SKUSE, 2020).

Nos últimos anos, vem sendo observado um grande aumento de indivíduos portadores do autismo, mas, considera-se que esse aumento é ocasionado pelas mudanças na definição e condição de comportamentos e sintomas que estão sendo analisadas para obter um diagnóstico, pois, varia muito em todo o mundo e isso está tendo maior reconhecimento em países com maior experiência no diagnóstico (FOMBONNE *et al.*, 2020).

Hoje, a obtenção do diagnóstico do transtorno do espectro autista ainda é tardia e o número de indivíduos portadores vem aumentando cada vez mais ainda na fase infantil, apontam estudos realizados nos Estados Unidos (BAIRD; CASS; SLONIMS, 2003). Com um diagnóstico precoce, os sintomas poderiam ser amplamente amenizados, porém, isso ainda parece ser uma realidade um pouco distante, pois, o autismo ainda é algo muito inconclusivo e de difícil aceitação para familiares (PINTO *et al.*, 2016). Esse atraso acaba inviabilizando a intervenção e tratamento precoce para a melhora dos sintomas. Mesmo sabendo que não existe cura, o início precoce de um tratamento é essencial para melhorar a eficácia na evolução e inclusão dos portadores em sociedade (CAMARGO; RISPOLI, 2013).

Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo mostrar a importância de entender e reconhecer sinais e sintomas do transtorno do espectro autista (TEA), também a importância de um diagnóstico precoce, da inclusão na sociedade, acolhimento familiar e disseminar uma maior proporção de informações científicas para a população em geral e profissionais da área da saúde.

## 2 METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado por meio de uma pesquisa bibliográfica de caráter exploratório e qualitativo contendo dados, conceitos e técnicas retirados de artigos científicos, teses e dissertações sobre o tema em bibliotecas, sites e plataforma online como SciELO, PubMed e Google Acadêmico. A fim de obter um trabalho com temas mais atuais, foi dada preferência para trabalhos publicados nos últimos dez anos (2012 a 2023), com algumas restrições em datas mais antigas quando se obteve informações importantes para o tema. As buscas ocorreram pela seleção das palavras-chave: “autismo”, “genes”, “diagnóstico”, “tratamento”, e pela restrição do período das publicações. Em seguida, foram realizadas as leituras, fichamentos e resenha dos artigos, os quais serviram de embasamento teórico para a construção do trabalho final. Os artigos que atenderam ao critério de inclusão foram selecionados pela simples leitura do título, sendo excluídos aqueles que não estavam relacionados ao tema ou não abordaram assuntos do interesse. Para os que foram incluídos, uma avaliação do resumo foi feita como segunda etapa de seleção e, dessa forma, os artigos que apresentaram todos os critérios de seleção foram escolhidos e analisados para compor este estudo.

## 3 TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTAS (TEA)

Em 1887, John Langdon Haydon Down, um médico britânico reconhecido pelo seu grande trabalho com crianças com deficiência intelectual, relatou em uma conferência na Sociedade Real de Medicina (RSM) em Londres sobre atrasos no desenvolvimento de crianças, citando exemplos, como: grande dificuldade de relacionamentos sociais, comunicação com si mesmo em terceira pessoa e que, em muitos casos, o desenvolvimento desses indivíduos eram normais no início mas, ao longo do tempo, começava-se observar uma regressão no desenvolvimento. Acredita-se que esses foram os primeiros relatos sobre o autismo (ZAPPELLA, 2022).

Nos últimos anos, a compreensão da genética do autismo vem evoluindo e se ampliando desde as primeiras descobertas clínicas, que também aconteceram em 1943 por Leo Kanner, onde escreveu em seu artigo sobre “distúrbios autísticos

congênitos do contato afetivo” e, assim, até nos dias de hoje o autismo é considerado como um distúrbio único e independente (HARRIS; LEO, 2018). Também passou-se a notar que o autismo é um distúrbio altamente hereditário (RUTTER, 2011). O predomínio do autismo se manteve baixo por muitos anos e o seu diagnóstico era feito diante das manifestações clínicas conforme os critérios de Leo Kanner e isso manteve-se contínuo em várias partes do mundo com números estimados de que a cada dez mil pessoas, quatro delas eram autistas (ZAPPELLA, 2022).

Ao longo dos anos de 2013 a 2023, estudos mostraram que o autismo é um transtorno complexo do neurodesenvolvimento que afeta toda a conectividade do cérebro e múltiplas redes cerebrais, resultando em inúmeras deficiências de comunicação social, motoras, cognitivas, comportamentais (ELSABBAGH; JOHNSON, 2016; SRINIVASON; BHAT, 2013; GEPNER; FÉRON, 2019).

Com base nessas características, o autismo é descrito especialmente pelas deficiências na comunicação e interação social, atrasos ou não desenvolvimento da fala, presença de comportamentos repetitivos e interesses restritos, existem também outras evidências de alterações motoras relacionadas ao autismo, mas, não são incluídas no seu diagnóstico por estarem associadas a outros transtornos, como o Transtorno do Desenvolvimento da Coordenação (TDC) (CAÇOLA; MILLER; WILLIAMSON, 2017).

### **3.1 Aspectos genéticos do TEA**

Com o avanço dos estudos a compreensão do autismo aumentou significativamente para a genética e hoje já sabemos que ele é altamente hereditário (RUTTER, 2011).

Uma das descobertas na sua etiologia é a variação do número de cópias cromossômicas e isso contribui para as condições alteradas do neurodesenvolvimento, como o transtorno do espectro autista. Algumas técnicas moleculares como a hibridização genômica comparativa de array que é um exame capaz detectar perdas ou ganhos cromossômicos, quanto técnicas de sequenciamento e reação em cadeia polimerase (PCR) fizeram com que ocorresse um aumento na detecção de pequenas variações no número de cópias e a

identificação de inúmeros genes suscetíveis no desenvolvimento do autismo (TAN *et al.*, 2011).

Bai *et al.* (2019) realizaram um estudo com famílias de indivíduos diagnosticados com autismo e gêmeos. Eles chegaram à conclusão que a herdabilidade no autismo é alta, podendo também haver uma contribuição do ambiente, porém não muito significativa.

Foram realizados diversos estudos envolvendo gêmeos a fim de observar as influências genéticas e ambientais no desenvolvimento do autismo. Nesses estudos, quando gêmeos monozigóticos, que são geneticamente idênticos, desenvolvem comportamentos e doenças distintas um do outro, demonstram que essas diferenças ocorrem por influência de fatores ambientais. Ou seja, por mais que a genética tenha uma grande responsabilidade no autismo, fatores aleatórios ou ambientais também podem influenciar de alguma maneira (LE COUTEUR, 1996).

Inicialmente, foi relatado que familiares de pessoas autistas também apresentavam elevadas características do autismo, porém, mais leves. Também foi apresentada uma análise de familiares que indicou uma predisposição a dificuldades comunicacionais e que em alguns casos pais de indivíduos autistas vinham a obter um diagnóstico de autismo após o do filho, porém em um grau mais leve (MILLER *et al.*, 2015).

Sendo assim, após a execução de vários estudos recentes realizados com gêmeos tanto monozigóticos quanto dizigóticos, pesquisadores propõe que o autismo pode ser observado em proporção continuamente dispersa na população, pois os gêmeos, apesar de compartilharem a mesma genética, nem todos portam o autismo, evidenciando que o autismo é altamente idiopático, onde se manifesta em indivíduos aleatoriamente e de forma espontânea (TAYLOR *et al.*, 2019).

As neuroliginas e as neurexinas são proteínas que quando ativadas por genes participam da conexão neuronal para que estímulos entre a sinapse possam fluir normalmente, e então, as primeiras mutações relatadas no autismo e de causas desconhecidas abrangem genes sinápticos como: *NLGN3*, *NLGN4* que em sua função normal ativam neuroliginas, as mutações identificadas nesses genes são susceptíveis para alterações do desenvolvimento neurológico uma vez que prejudicam tal função da sinapse. Também como o *gene NRXN1*, ele apresenta a mesma função dos outros

dois genes mas em uma proteína chamada neurexina e quando mutado gera uma gama de condições patológicas e o fenótipo dos indivíduos com deleções em sequências desse gene pode incluir retardo mental, atrasos na fala e hipotonia, que são presentes em doenças de desenvolvimento e no autismo (JAMAIN S. *et al.*, 2003; LAUMONNIER *et al.*, 2004). No autismo, como também no atraso da linguagem expressiva e atraso mental grave, estes genes também podem carregar variações estruturais que produzem alterações no número de cópias em uma determinada região genômica (DURAND; BETANCUR; BOECKERS, 2007; MOESSNER *et al.*, 2007).

Em uma análise do genoma completo foi constatado que variações estruturais genéticas contribuem consideravelmente para o autismo. Também foram encontrados alguns achados de alterações no número de cópias relacionadas com a função sináptica no autismo (SZATMARI *et al.*, 2007).

Diferentes estudos consecutivos apontaram alterações no número de cópias em genes sinápticos como SynGap e *DLGAP2* (MARSHALL *et al.*, 2008; BERKEL *et al.*, 2010; PINTO *et al.*, 2010). Uma investigação sobre os genes afetados por raras alterações no número de cópias certificou-se um papel fundamental nas causas dos sintomas de autismo como anormalidades na formação e manutenção de sinapses e também observou algumas vias afetadas, como a proliferação e motilidade celular, sinalização de GTPase/Ras e neurogênese (PINTO *et al.*, 2010; BEN-DAVID; SHIFFMAN, 2018).

Algumas deleções cromossômicas em 2q37, 7q31, 22q11 e 22q13.3 são de grande importância no estudo da citogenética do autismo, e microdeleções cromossômicas que são responsáveis por diversas síndromes também estão associadas ao surgimento do autismo (FREITAG, 2007).

São diversas as causas genéticas envolvidas no transtorno do espectro autista (BETANCUR, 2011), mas as categorias essenciais de genes estão associados ao desenvolvimento e função dos circuitos neuronais (TORO *et al.*, 2010; GILMAN *et al.*, 2011). Mutações de genes que codificam proteínas que participam de sinapses estão sendo mencionadas periodicamente em indivíduos com autismo (DURAND; BETANCUR; BOECKERS 2007; SZATMARI *et al.*, 2007; SANDERS *et al.*, 2011; LEVY *et al.*, 2011; COOPER *et al.*, 2011). O gene *SHANK* é uma classe de diversos

genes que estão fortemente envolvidos em várias funções sinápticas, incluindo morfogênese do terminal e formação de sinapses, transporte dos receptores de glutamato e ativação neuronal por neurotransmissão (SUNGUR *et al.*, 2017).

A eliminação dos genes *PROSAP1* e *SHANK2* em uma determinada região do braço longo no cromossomo é uma das principais anormalidades genéticas nos distúrbios do neurodesenvolvimento (COOPER *et al.*, 2011) e a mutação deste também foi evidenciada no autismo (PINTO *et al.*, 2010; BERKEL *et al.*, 2010; SOORYA L. *et al.*, 2013).

Outro gene de importância para estudos que está fortemente relacionado ao autismo é o *FOXP1*, ele é responsável por regular a expressão de genes ligados ao desenvolvimento do sistema nervoso e indivíduos que possuem mutação nesse gene normalmente são diagnosticadas com autismo ou deficiência intelectual, apresentam atraso no desenvolvimento, déficit motor e uma alteração grave na fala. Entretanto, investigação com mais detalhes da perda de função gênica que estudam a participação do gene *FOXP1* no desenvolvimento de fenótipos importantes para a neurogênese no cérebro precisam ser realizados. Estudos em alguns roedores começaram a esclarecer sua função principal no cérebro adulto (USUI *et al.*, 2017).

O gene *DYX1C1*, encontrado no *locus* 15q21, codifica uma proteína cuja sua função ainda não é totalmente conhecida, ele é encontrado em células neuronais e da glia e está associado a fenótipos relacionados com a linguagem, a mutação ou função alterada da proteína pode levar a consequências no desenvolvimento normal da fala (YLISAUKKO-OJA *et al.*, 2005).

O gene *ITGB3*, encontrado no *locus* 17q21.3, codifica uma proteína cujo nome é  $\beta$ -integrina 3, uma proteína presente na superfície de células, especificamente nas plaquetas, elas participam na adesão celular e no metabolismo da neurotransmissão da serotonina e possui um papel importante na sinalização podendo atuar na transcrição e tradução. O surgimento de um polimorfismo de nucleotídeo localizado na extremidade 5' deste gene está associado fortemente com os níveis elevados de serotonina no plasma. Este gene também pode estar associado ao gene *SLC6A4*, que se encontram próximos, ele é responsável por codificar o transportador de serotonina, atua no cérebro através de sinapses e o polimorfismo de inserção ou deleção desse

gene pode modular a recaptação do transportador acumulando serotonina nas plaquetas, explicando o aumento de nível plasmático de serotonina e não modificando os níveis de sinapses, essa é uma característica altamente encontrada em autistas e pode levar a mudanças comportamentais que corroboram no aparecimento do autismo (JOHANNESSEN K. M. *et al.*, 2018; WEISS *et al.*, 2006).

O gene *RELN*, localizado no locus 7q22, codifica a proteína relina que é responsável pela migração dos neurônios e de conexões neuronais, sendo importante para a formação de estruturas cerebrais. Mutações nele promovem a interrupção da síntese proteica, podendo influenciar no surgimento do autismo e estar relacionado com outras doenças neurogênicas como a esquizofrenia e a bipolaridade que são frequentemente encontradas em autistas. Esse processo também pode gerar a redução da proteína relina e conseqüentemente a formação anormal do córtex cerebral. Essa relação foi evidenciada por valores diminuídos de mRNA (RNA mensageiro) e da proteína em diversas áreas do cérebro em ratos, sendo um dos efeitos mais marcantes a formação anormal do córtex cerebral. Além disso, diversos estudos apontam picos que demonstram o aumento do número desse gene, como por exemplo dois genes no cromossomo 7, neste cromossomo também existem outros genes de suscetibilidade para o autismo, particularmente na região 7q22-q33 (SKAAR *et al.*, 2005; CARVALHEIRA; VERGANI; BRUNONI, 2004).

O gene *RPL10*, localizado no cromossomo Xq28, codifica as proteínas ribossomais L10 que participam do controle da expressão gênica e também podem estar implicadas nas vias de sinalização celular. A presença de três mutados nas regiões Xq22.3, Xq13-q26 e Xq27-q28 em mulheres com autismo, geram uma predisposição ao atraso mental (KLAUCK *et al.*, 2006).

O gene *SHANK3* é responsável por organizar proteínas para o processo de formação das sinapses e conexão entre os neurônios e, quando ocorre uma mutação desse gene pode resultar em uma proteína defeituosa alterando sua função normal, no autismo a deleção do gene *SHANK3* no cromossomo 22 estão sendo altamente encontradas no autismo, ele está associado ao atraso da linguagem expressiva e atraso mental grave. Também existem evidências que mutações no gene *MED13* estão associadas ao desenvolvimento do autismo (CLARK; OLDENBROEK; BOYER,

2015; PINERO *et al.*, 2015). Os genes *CHD8*, *SCN2A*, *ADNP*, *ASH1L* também são citados no estudo do autismo (SOORYA L. *et al.*, 2013; BERNIER R. *et al.*, 2014; SUGATHAN *et al.*, 2014).

Além disso, os receptores de gama-aminobutírico (GABA) têm tido muito envolvimento no autismo e outros distúrbios do neurodesenvolvimento (CHEN *et al.*, 2014; FATEMI; FOLSOM, 2015).

Até janeiro de 2020, foram descobertos 913 genes associados ao autismo segundo o banco de dados *Simons Foundation* dos Estados Unidos. Destes, 102 são considerados genes de risco, 49 apontam uma frequência mais alta de variantes separativas com atraso grave no desenvolvimento neurológico e 53 também apontam frequência alta em indivíduos diagnosticados com autismo, esses genes são classificados de risco quando a sua frequência é mais do que a esperada por ser raro e a maioria desses genes de risco para ambas situações possui papel importante na regulação da expressão gênica e a mutações deste afetam o neurodesenvolvimento (BAIO *et al.*, 2018; BEN-SHALOM *et al.*, 2017; BERNIER *et al.*, 2014; RUZZO *et al.*, 2019). Eles estão implicados em mais de 1.700 funções moleculares, localização celular, processos biológicos e 111 vias de sinalização (BAIO *et al.*, 2018).

### 3.2 Influências ambientais no TEA

Apesar do conhecimento de que o autismo é um transtorno altamente hereditário, os fatores ambientais também são considerados contribuintes para o desenvolvimento do transtorno (MANDY; LAI, 2016). Alguns dos fatores ambientais consideráveis no transtorno do espectro autista são os riscos que a gestante se expõe durante o pré-natal (RUTTER, 2015). Um exemplo sobre a responsabilidade materna no desenvolvimento de transtornos é demonstrado pela presença de TDAH, onde há evidências de que uma gestante exposta ao tabaco possui uma grande possibilidade de desenvolvimento de TDAH no bebê (THAPAR; ARROZ, 2020).

Alguns achados que ainda estão em discussão relacionados ao autismo é que a idade avançada, tanto materna quanto paterna, estão associadas a um risco maior de desenvolvimento do transtorno. Mas a paternidade atrasada também vem sendo relacionada a variantes raras espontâneas, entretanto, isso não é utilizado como uma

característica primária para concluir a causa do autismo em algum indivíduo (GRATTEN *et al.*, 2016).

Para compreender se a causa do autismo possui relação com acontecimentos pré-natais, foi realizada uma análise de indivíduos autistas comparando com seus irmãos não autistas. As características apresentadas foram amostradas através de média e frequência que ocorriam nos predomínios de exposição e comorbidades. Porém, essa análise não foi padronizada por ano de avaliação, idade e sexo, a fim de observar apenas as diferenças entre estes indivíduos com autismo. Essa análise foi repetida e novamente estimando o predomínio de exposições e comorbidades, agora utilizando dois irmãos de cada família, sendo estes discordantes para o diagnóstico do autismo. A fim de obter resultados confirmatórios e para que não tenha associações dispersas (ROTHMAN; GREENLADS; LASH, 2008).

O estudo analisou um total de 42.564 indivíduos com autismo e 11.390 dos seus irmãos não autistas como grupo controle, nascidos entre 1999-2019. Foram excluídos da análise, 47 indivíduos nascidos de mãe com idade de 13 a 55 anos ou de pais com menos de 13 anos e 1.936 indivíduos que, quando registrados no método SPARK, tinham 18 anos ou mais. A análise final contou com 51.971 participantes, destes, 40.582 com autismo e 11.389 irmãos não autistas nascidos de 34.929 mães, 79% das crianças que possuem autismo e 49% dos irmãos não autistas eram do sexo masculino. A média de idades que as mães apresentaram quando foi realizado o parto foi de 29,5 entre as crianças com autismo e 29,1 entre as crianças sem diagnóstico de autismo e a média de idade paterna também foi semelhante entre casos e controles, 31,8 e 31,5 anos, respectivamente. A tabela 1 concede detalhadamente as características que possibilitaram apurar os dados sobre esse grupo de pessoas da amostra analítica por circunstâncias de autismo (KHACHADOURIAN *et al*, 2023).

**Tabela 1** - Resultados obtidos através de características observadas pela análise de indivíduos autistas comparadas com irmãos não autistas a fim de posteriormente analisar exposições e comorbidades relacionadas ao pré-natal.

	Autistas (N = 40.582)	Não autistas (controle) (N = 11.389)
Ano de nascimento das		

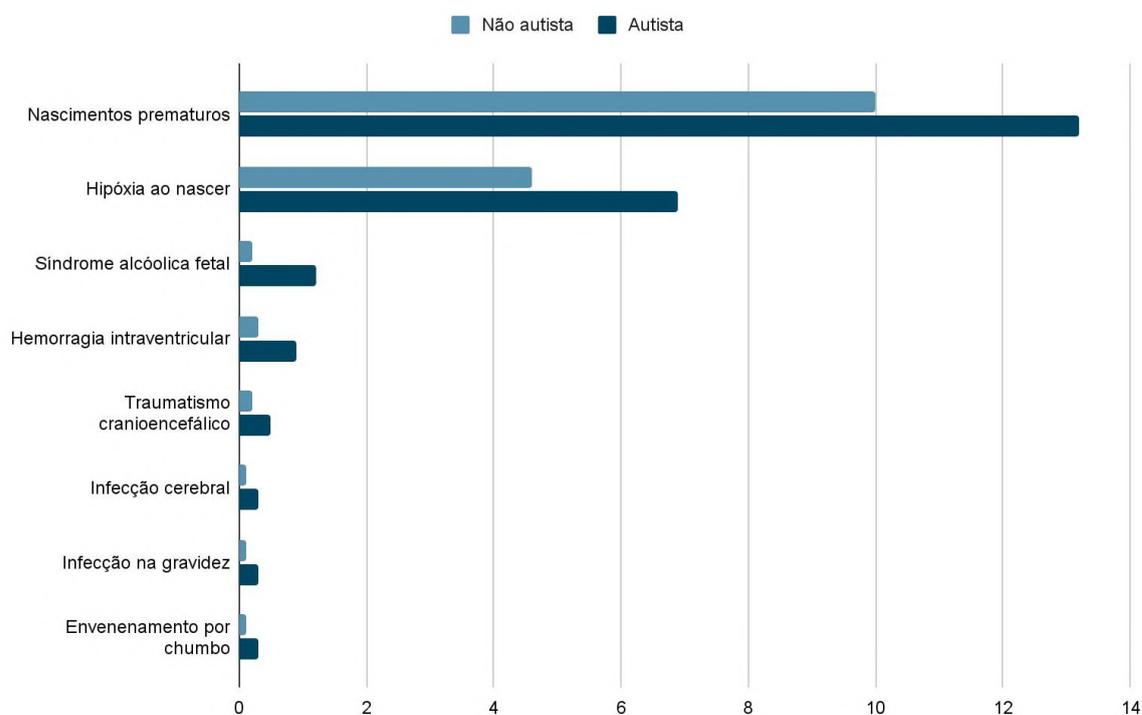
crianças		
1999-2004, n (%)	5.579 (13,7%)	1.638 (14,4%)
2005-2009, n (%)	11.823 (29,1%)	3.481 (30,6%)
2010-2014, n (%)	15.883 (39,1%)	3.985 (35,0%)
2015-2019, n (%)	7.297 (18,0%)	2.285 (20,1%)
Gênero		
Feminino, n (%)	8.430 (20,8%)	5.805 (51,0%)
Masculino, n (%)	32.152 (79,2%)	5.584 (49,0%)
Idade materna em entrega, média (DP)	29,5 (6,0)	29,1 (5,5)
Idade paterna em entrega, média (DP)	31,8 (6,6)	31,5 (6,2)

**Fonte:** KHACHADOURIAN *et al*, 2023.

Já nos resultados da análises das exposições pré-natais, foi verificado um maior nascimento de crianças autistas na ocorrência de hemorragia intraventricular, onde em 0,9% das gestações que teve esse acontecimento as crianças eram autistas e 0,3% dos irmãos não eram autistas. A infecção cerebral prevaleceu em 0,3% das gestações de autistas e 0,1% de não autistas (Gráfico 1). Para as demais exposições avaliadas, a ocorrência entre gestação de autistas e não autistas foi de, respectivamente: síndrome alcóolica fetal, 1,2% vs 0,2%; infecção na gravidez, 0,3% vs 0,1%; envenenamento por chumbo, 0,3% vs 0,1% e traumatismo crânio encefálico, 0,5% vs 0,2%. Estes resultados foram duas vezes maiores em crianças autistas com comparação aos irmãos do grupo controle que não eram autistas. As crianças com autismo também mostraram alta prevalência de hipóxia do nascimento (uma condição onde a criança não recebe oxigênio o suficiente no útero durante a gestação ou durante o parto) com resultado de 6,9% vs 4,6% e possuíam mais propensão a prematuridade com 13,2% vs 10,0% (KHACHADOURIAN *et al*, 2023).

**Gráfico 1** - Ilustração comparativa da predominância em porcentagem das exposições maternas pré e pós natais pelas condições de autismo, a fim de avaliar a predominância em irmãos não afetados, representados pelas barras azul claro, e afetados com autismo representados pelas barras azul escuro.

### Exposições

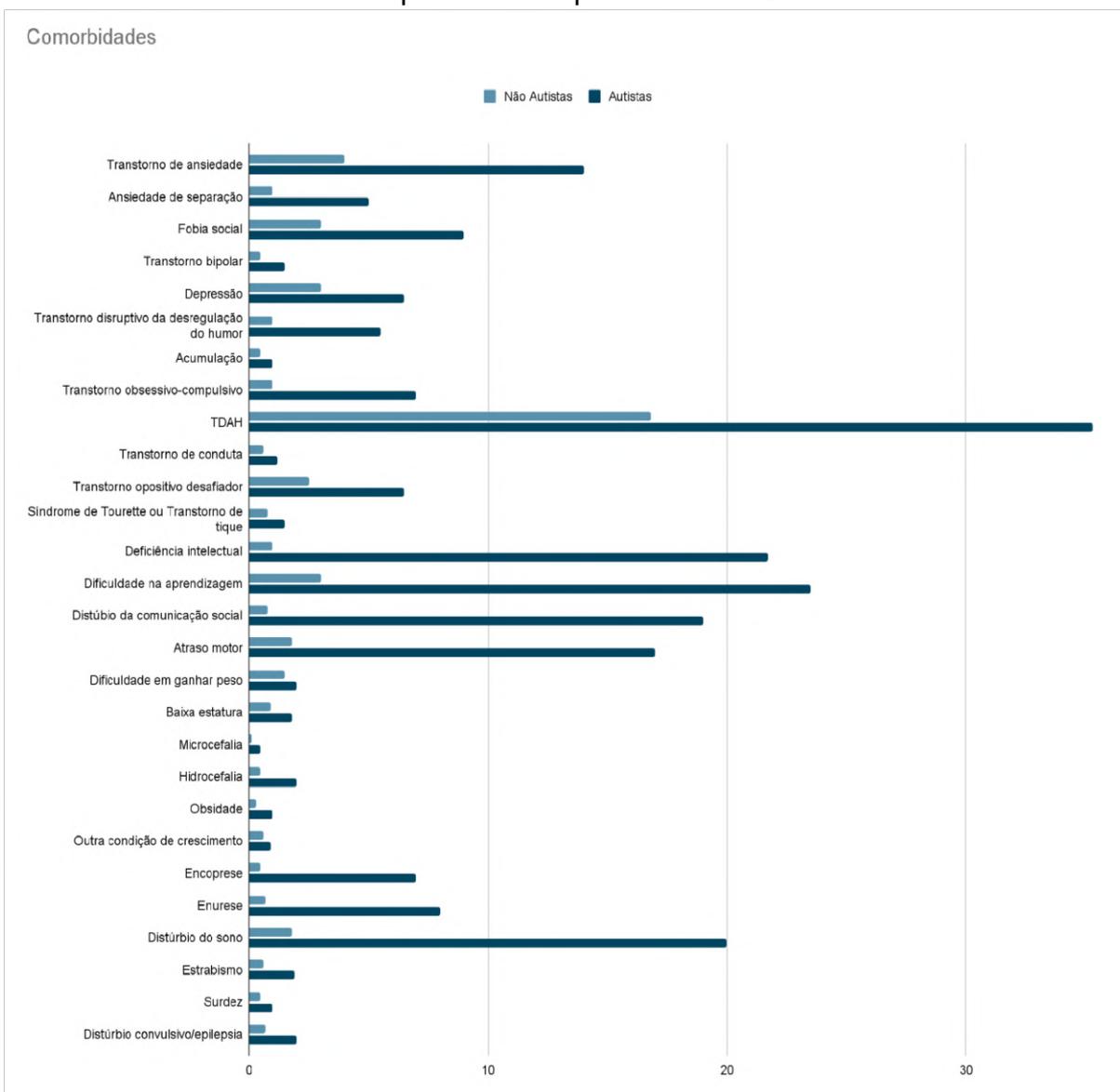


**Fonte:** Khachadourian *et al.* (2023)

Nesta análise, como dito anteriormente, também foram avaliadas comorbidades e algumas destas também foram predominantes em crianças com autismo em comparação com seus irmãos que não possuem diagnóstico para o transtorno, como mostra o Gráfico 2. Com isso, foi avaliado que o Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) tem uma alta predominância em crianças autistas, sendo que, a cada três crianças com autismo, uma possui TDAH, isso equivale na análise em 35,3%, enquanto em seus irmão não autistas, a cada seis crianças apenas uma apresenta TDAH, equivalente a 16,8%. Nas comorbidades de dificuldades de aprendizagem, crianças autistas apresentaram resultado de 23,5% e em deficiência intelectual 21,7%. Por fim, vinte e oito comorbidades foram analisadas e em todas estas, a abundância de comorbidades permaneceu em indivíduos com autismo. Entretanto, existe uma conexão destas comorbidades entre irmãos autistas

e não autistas, porém, nos irmãos não autistas elas são observadas muitas vezes menor que em irmãos autistas. E então, realizando essa comparação de crianças que não tiveram exposição pré e pós natal com as que tiveram, mesmo que tenha sido uma única vez, a predominância de comorbidades permanece em indivíduos com autismo (KHACHADOURIAN *et al*, 2023).

**Gráfico 2** - Ilustração comparativa da predominância em porcentagem das comorbidades apresentadas em indivíduos autistas e não autistas para fazer um comparativo e avaliar a predominância em irmãos afetados pelo autismo, representados pelas barras azul escura, e não afetados com autismo representados pelas barras azul clara.



Fonte: Khachadourian *et al.* (2023).

Essa associação entre as exposições pré e pós natal junto com as comorbidades, indica que, independente do grau de diagnóstico que o indivíduo afetado possui, essas comorbidades podem vir juntas com o autismo em virtude das exposições e não serem uma consequência posterior devido ao autismo. Através dessa análise, as características que mais persistiram significativamente em correlação ao autismo foram hipóxia no nascimento, parto prematuro e síndrome alcohólica fetal (GULATI *et al.*, 2014). Os resultados dessa análise ressaltam a necessidade de um monitoramento mais próximo e melhor para afirmar com certeza todas essas relações citadas, pois, sabemos que o autismo ainda não tem uma causa conclusiva. Sabendo-se da interação do autismo com essas exposições e comorbidades estudadas, espera-se um amparo na identificação e início do tratamento precoce para o autismo e também para as comorbidades em conjunto (CROEN *et al.*, 2015; BISHOP-FITZPATRICK, 2017).

Pode haver alguma correlação do autismo com efeitos pleiotrópicos, ou seja, um conjunto de efeitos múltiplos de um gene que possa controlar diversas características fenotípicas relacionadas, o que possivelmente explicaria esta alta frequência de comorbidades apresentadas por indivíduos autistas (VOHRA; MADHAVAN; SAMBAMOORTHY, 2017).

### **3.3 Diagnóstico do Transtorno do Espectro Autista (TEA)**

Acredita-se que o aumento de casos diagnosticados de autismo nos últimos 25 anos vem sendo ocasionado pelas mudanças na definição e condições de comportamentos e sintomas que antes não se incluíam para a obtenção de um diagnóstico (FOMBONNE, 2020). Os sinais do autismo são extremamente difíceis de se observar antes dos seis meses de vida, mas a partir de um ano e cinco meses já se torna bem mais fácil, pois é um período de grande desenvolvimento onde a criança começa a dar sinais de dificuldade na fala, nos comportamentos estereotipados e regressão no desenvolvimento social. O diagnóstico só pode ser fechado a partir dos dois anos de idade, entretanto, uma análise apontou que ainda a grande maioria só acontece a partir dos 5 anos de idade (van't HOF *et al.*, 2021).

Em 2019 a Organização Mundial de Saúde (OMS), desenvolveu o CID-11 que

reúne todos os transtornos que fazem parte do espectro acrescentando todos em um único diagnóstico que passou a ser o Transtorno do Espectro Autista, entretanto, isso ainda não se enquadra no Brasil porque ainda não foi “traduzido” (OMS, 2019).

### 3.3.1 Diagnóstico do TEA - Diagnóstico da Perturbação do Espectro Autista

Para um diagnóstico mais preciso sobre o transtorno do espectro autista, foram desenvolvidos alguns testes, um deles muito utilizado e classificado como padrão ouro no diagnóstico do autismo é o Diagnóstico da Perturbação do Espectro Autista, que consiste em uma escala de um conjunto de atividades padronizadas, permitindo que o examinador observe comportamentos que sejam relevantes para um diagnóstico. Nessa avaliação é possível observar o comportamento do indivíduo, sua comunicação, interação social, imaginação, presença de comportamentos restritos e repetitivos (LORD et al, 2018).

Estes testes são compostos por cinco módulos de avaliação, consistindo em divisão por idades, níveis de desenvolvimento e competência e linguagens diferentes. São aplicados conforme a idade do indivíduo e são divididos em: módulo T, onde se dirige para crianças de doze meses a dois anos e seis meses de idade que não formam frases, utilizam palavras isoladas e não possuem expressão nas falas; módulo 1, que se dirige para crianças a partir de dois anos e meio que também não formam frases e não possuem expressões nas falas; módulo 2, utilizado para crianças de qualquer idade, que formam frases mas possuem dificuldades de falas fluentes; módulo 3, é destinado a crianças e jovens que possuem uma fala expressiva e fluente; por último, módulo 4, que é utilizada para jovens e adultos que possuem fala expressiva e fluente, nele não se inclui adolescentes e adultos que não possuem a fala (ZAPPELLA, 2022).

### 3.3.2 Diagnóstico diferencial em relação a outros transtornos

Existem estudos mostrando que é frequente o número de pacientes que desenvolvem simultaneamente o autismo e o Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) (GHIRARDI *et al.*, 2017). O autismo é descrito como

deficiências e atrasos na comunicação, dificuldade na interação social, restrição de comportamentos, problemas de coordenação motora e transtornos de tiques, já o TDAH é determinado por uma tríade de sintomas dos quais incluem falta de atenção, impulsividade e hiperatividade (APA, 2013). Existe uma estimativa que de 14% a 78% de crianças que possuem autismo também tenham o TDAH (TRAINA; MANNION; LEADER, 2022).

Um estudo realizado na Suécia, com aproximadamente novecentos mil indivíduos diagnosticados com autismo, apontou que estes possuíam um maior risco de ter também o TDAH e que quase metade destes também foram diagnosticados com TDAH (GHIRARDI *et al.*, 2017). Entretanto, não existe um estudo que faça com que o diagnóstico de um indivíduo seja composto por autismo e TDAH, o laudo final é apenas de um dos transtornos, pois o Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais eliminou a possibilidade de um diagnóstico duplo destas colocações (KENTROU *et al.*, 2019).

Alguns relatos de casos evidenciam que existe uma grande dificuldade no diagnóstico quando o indivíduo possui autismo e TDAH, pois os sinais e sintomas apresentados não são tão específicos, como acontece quando é apenas um dos transtornos, o que acaba não resultando em um encaminhamento para um especialista e conseqüentemente causando o atraso no diagnóstico. Isso foi demonstrado através da quantidade aumentada de especialistas que esse grupo frequentou até conseguir um diagnóstico preciso (EGGLESTON *et al.*, 2019).

Outro estudo realizado com indivíduos autistas que foram diagnosticados apenas no final da infância com idades entre onze e quinze anos mostrou que estes possuíam, além do autismo, outras condições psiquiátricas, como transtornos afetivos, ansiedade e depressão. Assim, além de apresentarem autismo, outras manifestações físicas e psicológicas também acontecem ao mesmo tempo, sendo mais sujeitos a desenvolver obesidade, afetando várias condições do corpo. Uma curiosidade é que estes indivíduos também possuem uma taxa mais elevada para epilepsia, distúrbios do sono e doenças gastrointestinais (RODGAARD *et al.*, 2021).

Em uma pesquisa realizada através de relatos de pais de indivíduos já diagnosticados com autismo em algum outro momento da vida, tinha como objetivo ter raso esclarecimento sobre a faixa etária em que eram notados os diferentes

comportamentos com características autistas . O estudo mostrou que antes dos seis meses de vida é extremamente difícil observar alguma alteração significativa, mas que a partir dos doze meses de vida já começam a surgir algumas diferenças significativas, como na linguagem, nos comportamentos estereotipados, regressão no desenvolvimento social. Isso aponta que na maioria dos casos os sinais e sintomas do autismo já começam a aparecer na primeira infância, diferente do TDAH, que surge na infância um pouco mais avançada e normalmente só é notado quando a criança ingressa em uma pré-escola (OZONOFF *et al.*, 2014).

Atualmente, considera-se que o crescente aumento nos casos diagnosticados de autismo seja um reflexo da mudança dos critérios de diagnóstico, que, atualmente, houve uma expansão de fatores relacionados ao transtorno (LAI; BARON-COHEN, 2015). Outra área que vem crescendo amplamente nas pesquisas sobre o autismo é a sua descoberta e compreensão em adultos (ANDERSON; LANG; LORD, 2014). Isso foi facilitado pela possibilidade do adulto de realizar pesquisas online, que facilitam o acesso à informação aos que são impossibilitados de comparecer a universidades ou centros de pesquisa (HUANG *et al.*, 2020).

### 3.3.3 Diagnóstico através do método SPARK realizado nos Estados Unidos

Existe uma fundação abreviada pela sigla SPARK (*Simons Powering Autism Research Knowledge*), que consiste em acelerar as pesquisas e aumentar a compreensão do autismo para a melhora de vida de indivíduos diagnosticados e seus familiares. É um dos maiores estudos sobre autismo dos últimos tempos. Para ingressar neste sistema, é necessário que o indivíduo seja maior de idade ou podem ser pais de indivíduos diagnosticados com autismo que aceitem fornecer informações. A análise de amostras de saliva é opcional, para que sejam incluídas em um banco de dados onde pesquisadores possam ter acesso para os seus estudos. Também é necessário morar nos Estados Unidos e possuir capacidade de ler e compreender a língua inglesa (FELICIANO *et al.*, 2018).

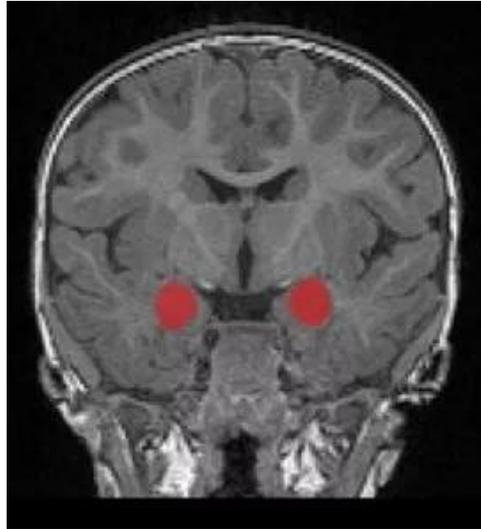
A partir do uso do método SPARK foram obtidos resultados consideráveis para a pesquisa sobre o autismo nos Estados Unidos, visando a importância de avaliar a idade do diagnóstico de autismo. O estudo mostrou um aumento de 80% nos

diagnósticos na faixa etária de vinte a quarenta anos, em que existe uma proporção maior de mulheres diagnosticadas tardiamente comparadas a homens e o diagnóstico na vida adulta possui mais propensão a alterações psiquiátricas (HUANG *et al.*, 2021).

#### 3.3.4 Métodos de diagnóstico por imagem

O avanço nas técnicas de neuroimagem possibilita que a tomografia por emissão de pósitrons (PET), a ressonância magnética (MRI) e a ressonância magnética funcional (MRIf) sejam bastante empregadas em estudos relacionados ao cérebro, análises de imagens cerebral encontraram que indivíduos com autismo possuem um distúrbio de deformidades heterogêneas (OSAMU, 1998; CARPER, 2002). Estudos de imagem cerebral de bebês com risco de autismo também evidenciaram que a expansão excessiva da área de superfície do córtex cerebral durante 6 e 12 meses leva o crescimento excessivo do volume cerebral no segundo ano de vida, por isso, o autismo só possui um diagnóstico confirmado em crianças a partir dos dois anos de idade, antes disso é estabelecido apenas uma suspeita, mas já pode se iniciar um acompanhamento para auxiliar no tratamento e melhora de qualidade de vida (HERNANDEZ *et al.*, 2015; ERIC COURCHESNE; AKSHOOMOFF, 2003).

**Imagem 1** - Os pontos vermelhos representam pequenas estruturas cerebrais que são chamadas de amígdalas cerebrais, elas são responsáveis por interpretar significados de estímulos, reconhecer emoções em rostos e imagens e informar sobre perigos potenciais e em indivíduos autistas elas possuem um crescimento anormal durante os 6 e 12 meses de vida.



**Fonte:** Universidade de Carolina do Norte (2022)

### 3.3.5 Importância do diagnóstico precoce

O atraso no diagnóstico do autismo pode influenciar em importantes características da saúde mental, física e conseqüentemente na qualidade de vida do indivíduo. É alarmante os altos índices de condições psiquiátricas que são mais relatadas em adultos do que crianças com autismo, como a depressão, ansiedade e transtorno obsessivo-compulsivo (TOC) (HOFVANDER *et al.*, 2009; HOWLIN; MAGIATI, 2017; NAHAR *et al.*, 2019; RYDÉN *et al.*, 2009). Isso pode se iniciar com uma dificuldade de aceitação pelos pais (STEVENS; PENG; BARNARD-BRAK, 2016). Também pode acontecer devido a origem de comportamentos quando ainda criança, podendo inicialmente ser atribuída como seu temperamento, dificuldades de comportamento ou traços parentais, o que dificulta uma intervenção por especialistas (WALLISCH *et al.*, 2020; YAMAUCHI *et al.*, 2015). Com a identificação precoce, pode-se contar com um tratamento imediato que vai auxiliar no melhor desenvolvimento das coordenações motoras. Na ausência de uma intervenção, futuramente, pode dificultar a realização de brincadeiras e interações com outras crianças, levando a um risco

aumentado de desenvolver outras condições, principalmente psicológicas (BHAT; LANDA; GALLOWAY, 2011).

Um estudo realizado em adultos diagnosticados com autismo e um grupo controle sem autismo comprovou que aproximadamente 60% desses indivíduos autistas possuem também Transtorno Obsessivo Compulsivo (TOC), além de também apresentar maior tendência a episódios depressivos em comparação com o grupo controle. Isso demonstra mais uma vez que pessoas diagnosticadas com autismo carregam também outros transtornos, como já falado da ocorrência em crianças (RUSSELL *et al.*, 2016).

### **3.4 Tratamento - Análise Comportamental Aplicada (ABA)**

A Análise Comportamental Aplicada (ABA) é uma ciência que avalia, explica e modifica comportamentos de indivíduos autistas por embasamentos teóricos que avaliam a interação deste indivíduo com seu ambiente, seja ele físico ou ambiental. Nela, é possível investigar quais os fatores antecedem e influenciam algum tipo de comportamento realizado por eles. Ela foi criada por *Burrhus Frederic Skinner* e ocorre pela aplicação de consequências, sendo positivas quando se resultar de bons comportamentos e negativas quando se resultar de maus comportamentos, pretendendo que a sua maior importância é valorizar as consequências de forma inflexível, pois é a partir dessa correlação que permitirá o entendimento para o indivíduo sobre o que é certo e o que é errado, estimulando um desenvolvimento de forma natural (CAMARGO; RISPOLI, 2013).

Para se aplicar a intervenção baseada na ABA, é necessário um acompanhamento por psicólogos especializados que devem enfatizar suas necessidades. Essa análise também afirma que o ambiente deve ser agradável para os indivíduos para não haver limitações e favorecer o bem-estar. É uma análise estruturada em quatro fases, a primeira se baseia na análise do comportamento, a segunda na escolha de metas e objetivos a serem determinados, a terceira em desenvolver os tratamentos, sendo estes específicos em quais comportamentos serão ensinados e quais o indivíduo já realiza para que durante o processo seja observado o progresso, e a quarta se resulta na realização de intervenções (CAMARGO;

RISPOLI, 2013).

É uma referência no tratamento do autismo pela sua alta eficácia já comprovada, ela é realizada de forma individual e dividida em etapas que serão determinadas e caracterizadas para cada portador de autismo diante dos espectros mais frequentes apresentados por ele (COLOMBO, 2018).

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo intenciona estabelecer para a sociedade a importância de entender sinais e sintomas do transtorno do espectro autista para um diagnóstico precoce. Apesar de ainda não haver informações conclusivas sobre a sua causa e também uma cura, é de grande importância ter informações sobre o assunto, para início de um tratamento adequado e eficaz dos indivíduos portadores para uma boa evolução na qualidade de vida. Atualmente é um assunto que vem tomando uma proporção perceptível na sociedade em geral, o tornando muito relevante para ser estudado, contribuir com conhecimento para população e auxiliar no convívio e inclusão social.

#### REFERÊNCIAS

- ANDERSON; LIANG; LORD. Predicting young adult outcome among more and less cognitively able individuals with autism spectrum disorders. **Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines**, 55(5), 485–494. 2014.
- APA - AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. **5th Edition: DSM-5. Washington, DC: American Psychiatric Publishing**. 2013.
- BAI *et al.* Association of genetic and environmental factors with autism in a 5-country cohort. **JAMA Psychiatry**, 76(10). 2019.
- BAIO *et al.* Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years autism and developmental disabilities monitoring network. **11 sites, United States, MMWR Surveill Summ**. 67(SS-6):1–23. 2018.
- BAIRD; CASS; SLONIMS. Diagnosis of autism. **BMJ**. Aug 30;327(7413):488-93. doi: 10.1136/bmj.327.7413.488. PMID: 12946972; PMCID: PMC188387. 2003.
- BEN-DAVID; SHIFFMAN S. Networks of neuronal genes affected by common and rare variants in autism spectrum disorders. **PLoS Genet**;8:e1002556. 2018.

BEN-SHALOM *et al.* Opposing effects on NaV1.2 function underlie differences between SCN2A variants observed in individuals with autism spectrum disorder or infantile seizures. **Biol. Psychiatry** 82, 224–232. 2017.

BERNIER *et al.* Disruptive CHD8 mutations define a subtype of autism early in development. **Cell** 158,263-276. 2014.

BERKEL *et al.* Mutations in the SHANK2 synaptic scaffolding gene in autism spectrum disorder and mental retardation. 2010. **Nat Genet**;42:489-491. 2010.

BETANCUR C. Etiological heterogeneity in autism spectrum disorders: More than 100 genetic and genomic disorders and still counting. **Brain Res** 1380: 42–77. 2011.

BHAT; LANDA; GALLOWAY. Current perspectives on motor functioning in infants, children, and adults with autism spectrum disorders. **Physical Therapy**, 91 (7), 1116–1129. 10.2522/ptj.20100294. 2011.

BISHOP- FITZPATRICK & KIND A. A scoping review of health disparities in autism spectrum disorder. 2017. **J Autism Dev Disord**; 47:3380–91. 2017.

CAÇOLA; MILLER; WILLIAMSON. Behavioral comparisons in Autism spectrum disorder and developmental coordination disorder: A systematic literature review. 2017. **Research in Autism Spectrum Disorders**, 38, 6–18. 10.1016/j.rasd.2017.03.004. 2017.

CAMARGO; RISPOLI. Análise do comportamento aplicada como intervenção para o autismo: definição, características e pressupostos filosóficos. 2013. **Revista Educação Especial**, 26(47), 639–650. 2013.

CARPER. Cerebral Lobes in Autism: Early Hyperplasia and Abnormal Age Effects. **NeuroImage**, 16(4):1038–51. 2002.

CARVALHEIRA; VERGANI; BRUNONI. Genética do Autismo. 2004. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. 26(4), pp.270-272.

CHEN *et al.* Synaptic proteins and receptors defects in autism spectrum disorders. 2014. **Front. Cell. Neurosci.** 8, 1–13. 2014.

CLARK; OLDENBROEK; BOYER. “Mediator kinase module and human tumorigenesis”. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, vol. 50, no. 50, pp. 393–426, 2015.

COLOMBO. ABA en el tratamiento del autismo. **Psyciencia España: abatratamiento-autismo**. 2018.

COOPER *et al.* A copy number variation morbidity map of developmental delay. 2011. **Nat Genet** 43: 838–846. 2011.

CROEN *et al.* The health status of adults on the autism spectrum autism. 2015;19(7):814–823. <https://doi.org/10.1177/1362361315577517>. 2015.

DOHERTY; HAYDON; DAVIDSON. Recognising autism in healthcare. 2021. **Br J Hosp Med** (Lond). Dec 2;82(12):1-7. doi: 10.12968/hmed.2021.0313. Epub 2021 Dec 8. PMID: 34983217. 2021

DURAND; BETANCUR; BOECKERS. Mutations in the gene encoding the synaptic scaffolding protein SHANK3 are associated with autism spectrum disorders. **Nat Genet**; 39:25-27. 2007.

EGGLESTON *et al.* Obtaining an autism spectrum disorder diagnosis and supports: New Zealand parents' experiences. **Research in Autism Spectrum Disorders**, 62, 18–25. 2019.

ELSABBAGH; JOHNSON. Autism and the social brain: The first-year puzzle. **Biological Psychiatry**, 80(2), 94–99. 10.1016/j.biopsych.2016.02.019. 2016.

ERIC COURCHESNE; AKSHOOMOFF. Evidence of Brain Overgrowth in the First Year of Life in Autism. **JAMA**; 209(3):337–44. 2003.

FAGERBERG *et al.* Heart defects and other features of the 22q11 distal deletion syndrome. **Eur. J. Med. Genet.** 56, 98–107. 2013.

FATEMI; FOLSOM. GABA receptor subunit distribution and FMRP-mGluR5 signaling abnormalities in the cerebellum of subjects with schizophrenia, mood disorders, and autism. **Schizophr. Res.** 167, 42–56. 2015.

FELICIANO *et al.* SPARK: A US cohort of 50,000 families to accelerate autism research. 2018. **Neuron**, 97(3), 488–493. 10.1016/j.neuron.2018.01.015. 2018. FOMBONNE *et al.* The SPARK Consortium. Psychiatric and medical profiles of autistic adults in the SPARK cohort. **Journal of Autism and Developmental Disorders**, 50(10), 3679–3698. 2020.

FREITAG. The genetics of autistic disorders and its clinical relevance: a review of the literature. **Mol Psychiatry**. Jan;12(1):2-22. doi: 10.1038/sj.mp.4001896. Epub 2006 Oct 10. PMID: 17033636. 2007.

GEPNER; FÉRON. Autism: A world changing too fast for a mis-wired brain? **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, 33(8), 1227–1242. 10.1016/j.neubiorev.2009.06.006. 2019.

GHIRARDI *et al.* The familial co-aggregation of ASD and ADHD: a register-based cohort study. **Molecular Psychiatry**. 2017.

GILMAN *et al.* Rare de novo variants associated with autism implicate a large functional network of genes involved in formation and function of synapses. **Neuron** 70: 898–907. 2011.

GRATTEN *et al.* Risk of psychiatric illness from advanced paternal age is not predominantly from de novo mutations. **Nature Genetics**, 48(7), 718–724. 2016.

GULATI *et al.* Effect of gestational age and birth weight on the risk of strabismus among premature infants. **JAMA Pediatr**;168:850. 2014.

HARRIS; LEO. Autism: A 75-year perspective. **International Review of Psychiatry**, 30(1), 3–17. 2018.

HERNANDEZ *et al.* Neural signatures of autism spectrum disorders: insights into brain network dynamics. **Neuropsychopharmacol**; 40(1):171–89. 2015.

HOFVANDER *et al.* Psychiatric and psychosocial problems in adults with normal-intelligence autism spectrum disorders. **BMC Psychiatry**. Jun 10;9:35. doi: 10.1186/1471-244X-9-35. PMID: 19515234; PMCID: PMC2705351. 2009.

HOWLIN; MAGIATI. **Autism spectrum disorder: outcomes in adulthood. Curr Opin Psychiatry**. Mar;30(2):69-76. doi: 10.1097/YCO.0000000000000308. PMID: 28067726. 2017.

HUANG *et al.* Diagnosis of autism in adulthood: A scoping review. 2020. **Autism**, 24(6), 1311–1327. 2020.

HUANG *et al.* Factors associated with age at autism diagnosis in a community sample of Australian adults. **Autism Research**, 14(12), 2677–2687. 2021.

JAMAIN *et al.* Mutations of the X-linked genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 are associated with autism. **Nat Genet**; 34:27-29. 2003.

JOHANNESSEN *et al.* Defining the phenotypic spectrum of SLC6A4 mutations. 2018. **Epilepsia** 59, 389-402. 2018.

KHACHADOURIAN *et al.* Comorbidities in autism spectrum disorder and their etiologies. **Transl Psychiatry**. Feb 25;13(1):71. doi: 10.1038/s41398-023-02374-w. PMID: 36841830; PMCID: PMC9958310. 2023.

KENTROU *et al.* Delayed autism spectrum disorder recognition in children and adolescents previously diagnosed with attention-deficit/hyperactivity disorder. **Autism**, 23(4), 1065–1072. 2019.

KLAUCK *et al.* Mutation in the ribosomal protein gene RPL10 suggest a novel modulating disease mechanism for autism. **Nature (Molecular Psychiatry)**. 11, pp.1073-1084. doi: 10.1038/sj.mp.4001883. 2006.

LAI; BARON-COHEN. Identifying the lost generation of adults with autism spectrum conditions. **The Lancet Psychiatry**, 2(11), 1013–1027. 2015.

LAUMONNIER *et al.* X-linked mental retardation and autism are associated with a mutation in the NLGN4 gene, a member of the neuroligin family. 2004. **Am J Hum Genet**; 74:552-557. 2004.

LE COUTER *et al.* A broader phenotype of autism: the clinical spectrum in twins. **Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines**, 37(7), 785–

801. 1996.

LEVY *et al.* Rare de novo and transmitted copy-number variation in autistic spectrum disorders. 2011. **Neuron** 70: 886–897. 2011.

LORD *et al.* Autism spectrum disorder. **Lancet**; Aug 11;392(10146):508-520. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31129-2. **Epub** Aug 2; PMID: 30078460; PMCID: PMC7398158. 2018.

MANDY; LAI. Annual Research Review: The role of the environment in the developmental psychopathology of autism spectrum condition. 2016. **J Child Psychol Psychiatry**. Mar;57(3):271-92. doi: 10.1111/jcpp.12501. **Epub** 2016 Jan 19. PMID: 26782158. 2016.

MARSHALL *et al.* Structural variation of chromosomes in autism spectrum disorder. 2008. **Am J Hum Genet**; 82:477-488. 2008.

MILLER *et al.* Early pragmatic language difficulties in siblings of children with autism: implications for DSM-5 social communication disorder? 2015. **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, 56(7), 774–781. 2015.

MOESSENER *et al.* Contribution of SHANK3 mutations to autism spectrum disorder. **Am J Hum Genet**; 81:1289-1297. 2007.

NAHAR *et al.* Psychiatric comorbidity in persons with high-functioning autism spectrum disorders: Findings from a tertiary care neuropsychiatric hospital. 2019. **Asian Journal of Psychiatry**, 41, 50–53. 2019.

OSAMU. Magnetic resonance imaging study of the brain in autism. 1998. **Psychiatry Clin Neurosci**; 52:S219–22. 1998.

OZONOFF *et al.* The broader autism phenotype in infancy: When does it emerge? **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, 53(4), 398-407. e392. 2014.

PINERO *et al.* “Disgenet: a discovery platform for the dynamical exploration of human diseases and their genes”. **Database**, bav028 pages, 2015.

PINTO *et al.* Functional impact of global rare copy number variation in autism spectrum disorders. **Nature**. 2010;466:368- 372. 2010.

PINTO *et al.* Autismo infantil: impacto do diagnóstico e repercussões nas relações familiares. 2016. **Rev Gaúcha Enferm**; set;37(3):e61572. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1983-1447.2016.03.61572>. 2016.

RODGAARD *et al.* Autism comorbidities show elevated female-to-male odds ratios and are associated with the age of first autism diagnosis. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, 144(5), 475–486. 2021.

ROTHMAN; GREENLAND; LASH. Modern Epidemiology. **Third. Wolters Kluwer**

**Health/Lippincott Williams & Wilkins.** 2008.

RUSSELL *et al.* The mental health of individuals referred for assessment of autism spectrum disorder in adulthood: A clinic report. **Autism**, 20(5), 623–627. 2016.

RUTTER. Progress in understanding autism: 2007–2010. 2011. **Journal of Autism and Developmental Disorders**, 41(4), 395–404. 2011.

RUTTER. Changing concepts and findings on autism. **Journal of Autism and Developmental Disorders**, 43(8), 1749–1757. 2013.

RUTTER. Some of the complexities involved in gene-environment interplay. 2015. **International Journal of Epidemiology**, 44(4), 1128–1129. 2015.

RUZZO *et al.* Inherited and de novo genetic risk for autism impacts shared networks. **Cell** 178, 850-866.e26. 2019.

RYDÉN *et al.* A history of childhood attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) impacts clinical outcome in adult bipolar patients regardless of current ADHD. **Acta Psychiatr Scand**. Sep;120(3):239-46. doi: 10.1111/j.1600-0447.2009.01399.x. Epub. May 7. PMID: 19426162. 2009.

SANDERS *et al.* Multiple Recurrent De Novo CNVs, Including Duplications of the 7q11.23 Williams Syndrome Region, Are Strongly Associated with Autism. 2011. **Neuron** 70: 863–885. 2011.

SILVIA; MULICK. Diagnosticando o transtorno autista: aspectos fundamentais e considerações práticas. **Psicologia: ciência e profissão**, 29 113-131. 2012.

SKAAR *et al.* Analysis of RELN gene as a genetic risk factor for autism. **Nature (Molecular Psychiatry)**. 10, pp.563-571. 2005.

SKUSE. Rethinking the nature of genetic vulnerability to autistic spectrum disorders. **Trends Genet**;23:387-395. 2020.

SOORYA *et al.* Prospective investigation of autism and genotype-phenotype correlations in 22q13 deletion syndrome and SHANK3 deficiency. **Mol. Autism** 4, 18. 2013.

SRINIVASAN; BHAT. A review of “music and movement” therapies for children with autism: Embodied interventions for multisystem development. **Frontiers in Integrative Neuroscience**, 7, 1–22. 2013.

STEVENS; PENG; BARNARD-BRAK. The comorbidity of ADHD in children diagnosed with autism spectrum disorder. **Research in Autism Spectrum Disorders**, 31, 11–18. 2016.

SUGATHAN *et al.* CHD8 regulates neurodevelopmental pathways associated with autism spectrum disorder in neural progenitors. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 111, E4468–E4477. 2014.

SUNGUR *et al.* Aberrant cognitive phenotypes and altered hippocampal BDNF expression related to epigenetic modifications in mice lacking the post-synaptic scaffolding protein SHANK1: Implications for autism spectrum disorder. **Hippocampus**, 27(8),906–919. doi:10.1002/hipo.22741. 2017.

SZATMARI *et al.* Mapping autism risk loci using genetic linkage and chromosomal rearrangements. **Nat Genet** 39: 319–328. 2007.

TAN *et al.* Phenotypic variability of distal 22q11 . 2 copy number abnormalities. **Am. J. Med. Genet.** 155A, 1623–1633. 2011.

TAYLOR *et al.* Association of genetic risk factors for psychiatric disorders and traits of these disorders in a Swedish population twin sample. **JAMA Psychiatry**, 76(3), 280. 2019.

THAPAR; ARROZ. Family-based designs that disentangle inherited factors from preand postnatal environmental exposures: in vitro fertilization, discordant sibling pairs, maternal versus paternal comparisons, and adoption designs. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**. 2020.

TORO *et al.* Key role for gene dosage and synaptic homeostasis in autism spectrum disorders. **Trends Genet: in press**. 2010.

TRAINA; MANNION; LEADER. Transition Program from School to Employment in Youths with Intellectual Disability: Evaluation of the Irish Pilot Study E-IDEAS. **Dev Neurorehabil.** Feb;25(2):87-100. doi: 10.1080/17518423.2021.1941373. Epub 2021 Jun 29. PMID: 34184590. 2022.

UNIVERSITY OF NORTH CAROLINA. Scientists identify increase in significant structures in babies with autism. Mar, 2022.

USUI *et al.* Foxp1 regulation of neonatal vocalizations via cortical development. **Genes & Development**, 31(20),2039–2055. doi:10.1101/gad.305037.117. 2017.

VAN'T HOF *et al.* Age at autism spectrum disorder diagnosis: A systematic review and meta-analysis from 2012 to 2019. **Autism**, 25(4), 862–873. 2021.

VOHRA; MADHAVAN; SAMBAMOORTHY. Prevalence of comorbidity, health care utilization, and expenditures of Medicaid-enrolled adults with autism spectrum disorders. **Autism**; 21:995–1009. 2017.

VORSTMAN *et al.* Autism genetics: Opportunities and challenges for clinical translation. **Nature Reviews Genetics**, 18(6), 362–376. 2017.

WALLISCH *et al.* Parent concerns: Differentiating developmental diagnosis in young children. **Research in Developmental Disabilities**, 103, 103684. 2020.

WEISS *et al.* Variation in ITGB3 is associated with whole-blood serotonin level and autism susceptibility. **Nature (European Journal of Human Genetics)**. 14, pp.923-

931. doi: 10.1038/sj.ejhg.52016. 2006.

YAMAUCHI; FUJIWARA; OKUYAMA. Factors influencing time lag between initial parental concern and first visit to child psychiatric services among ADHD children in Japan. **Community Mental Health Journal**, 51(7), 857–861. 2015.

YLISAUKKO-OJA *et al.* Family-based association study of DYX1C1 variants in autism. **Nature (European Journal of Human Genetics)**. 13, pp.127-130. 2005.

ZAPPELLA. Аутизм: диагностическая дилемма. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова;122(6):71–76. 2022.

# PRINCIPAIS MARCADORES LABORATORIAIS NA GRAVIDADE DE INFECÇÃO PELO NOVO CORONAVÍRUS - SARS-COV-2

MAIN BIOCHEMICAL MARKERS IN THE SEVERITY OF THE INFECTION BY THE NEW CORONAVIRUS - SARS-COV-2.

Ana Carolina Bispo Ivanaga<sup>1</sup>  
Alberto Yoichi Sakaguchi<sup>2</sup>

496

## RESUMO

O SARS-Cov-2, agente causador da pandemia de COVID-19, é um vírus que, a princípio, era conhecido por acometer o sistema pulmonar causando as síndromes respiratórias. No entanto, ao longo da pandemia, as pesquisas mais avançadas sobre o tema demonstraram que este vírus acomete outros sistemas, como o cardiovascular, renal, hepático e imunológico. Por isso, é de suma importância o conhecimento dos principais marcadores laboratoriais de pacientes infectados, já que esses são fundamentais para o diagnóstico da doença e também para o prognóstico do estado de saúde do paciente. O objetivo desta pesquisa é realizar uma revisão bibliográfica capaz de avaliar achados laboratoriais de pacientes infectados, estimando a gravidade da infecção baseada nos marcadores. Dentre os marcadores, estão: marcadores hematológicos como linfócitos e plaquetas, marcadores cardiovasculares como a troponina I, marcadores inflamatórios como a ferritina e proteína C reativa (PCR), marcadores hepáticos como o AST e ALT, além dos marcadores relacionados a coagulação, como o dímero D. Para o seu desenvolvimento foram utilizadas as plataformas digitais como Google Acadêmico, Scielo, PubMed e Science Direct. Desse modo, conclui-se que é de grande importância a associação entre marcadores e seus sistemas em pacientes com COVID-19, uma vez que auxiliam no diagnóstico e avaliam o prognóstico da doença.

**Palavras-chave:** marcadores laboratoriais; COVID-19; prognóstico.

## ABSTRACT

Sars-Cov-2, the causative agent of the COVID-19 pandemic, is a virus that was initially known to affect the pulmonary system, causing respiratory syndromes. However, over the course of the pandemic, more advanced research on the subject has shown that this virus affects other systems, such as the cardiovascular, renal, hepatic and immune systems. For this reason, it is extremely important to know the main laboratory markers of infected patients, as these are fundamental for the diagnosis of the disease and also for the prognosis of the patient's state of health. The aim of this research is to carry out a bibliographic review capable of evaluating laboratory findings in infected patients, estimating the severity of the infection based on the markers. Among the markers are: hematological markers such as lymphocytes and platelets, cardiovascular markers such as troponin-I, inflammatory markers such as ferritin and C-reactive protein (PCR),

<sup>1</sup> Ana Carolina Bispo Ivanaga, Graduanda do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia UniFil, Londrina, PR. E-mail: carolivanaga@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Docente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia - UniFil, Londrina, PR. E-mail: albertosakaguchi@unifil.br

liver markers such as AST and ALT, as well as markers related to coagulation such as dimer D. Digital platforms such as Google Scholar, Scielo, PubMed and Science Direct were used for its development. The conclusion is that the association between markers and their systems in patients with COVID-19 is the great importance, since they help in the diagnosis and assess the prognosis of the disease.

**Keywords:** laboratorials markers; COVID-19, prognosis.

## 1 INTRODUÇÃO

O Coronavírus foi identificado pela primeira vez em meados de 1960 em Londres, na Inglaterra, como causador de um resfriado comum, pertencente à família *Coronaviridae* da ordem *Nidovirales*. É classificado em quatro gêneros, os quais dois deles são capazes de infectar humanos ( $\alpha$ -coronavírus e  $\beta$ -coronavírus) e os demais foram detectados apenas em animais ( $\gamma$ -coronavírus e  $\delta$ -coronavírus).

Este vírus é constituído de RNA de sentido positivo não segmentado e envelopado, recebe o nome de Coronavírus pelas espículas que contém em seu envelope que lembra o formato de uma coroa (do latim *Corona*) (PIMENTEL *et al.*, 2020).

Em 2002, houve o primeiro surto de uma infecção potencialmente letal ligado ao vírus que recebeu o nome de SARS-CoV, causador da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS do inglês "*Severe Acute Respiratory Syndrome*") que deixou parte da população infectada e uma parcela dessas foram a óbito. Uma década depois, houve mais um surto de infecção pelo vírus, dessa vez no Oriente Médio, cujo nome dado foi MERS-CoV, Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS do inglês *Middle East Respiratory Syndrome*). Entretanto, houve um terceiro surto da infecção, essa em 2019 com início na China, que se espalhou rapidamente pelo mundo todo, causada pelo SARS-CoV-2 que recebeu o nome de *Coronavirus Disease 2019* (Covid-19) (MARTIN *et al.*, 2020.).

A transmissão dessa doença se dá principalmente através do contato direto com pessoas infectadas, através das gotículas respiratórias liberadas pela tosse, espirros e fala, ou até mesmo por meio de superfícies contaminadas que, ao tocar, levam o vírus para as mucosas do corpo. O estudo de Martin *et al.* (2020) relata que, quanto maior a gravidade da infecção, maior a facilidade de transmissão. Diante disso, é importante demonstrar que a infecção apresenta um espectro muito amplo, podendo

variar de casos assintomáticos a graves, como um simples resfriado até uma infecção com acometimento sistêmico. Tendo ainda, portadores de comprometimentos crônicos com o acometimento ainda mais grave. (GORBALENYA *et al.*, 2020)

Vale salientar que os sinais e sintomas também são bem variados, dependendo do organismo do paciente e da gravidade da infecção, dentre os principais sintomas estão febre, tosse e falta de ar, mas também são relatados cefaleia, perda de olfato e paladar, diarreia, náusea e inapetência (CIOTTI *et al.*, 2020). Almeida *et al.* (2021) classifica a infecção pelo SARS-Cov-2 como algo que ainda está em descoberta, pois existem muitas pesquisas ainda em curso que comprovam e divulgam algo novo sobre esta patologia. O que se sabe é que este vírus possui alta capacidade de se espalhar por todas as partes do corpo e que está em constantes mutações, podendo comprometer o organismo de forma sistêmica, levando a alterações hematológicas, imunológicas, e até mesmo bioquímicas.

O principal sítio de ligação do SARS-Cov-2 é o receptor de membrana ECA2 (enzima conversora de angiotensina 2), a qual este é expresso por várias partes do corpo, como coração, intestino delgado, rins e nos pulmões onde está concentrada a maior parte desse receptor (HAMMING *et al.*, 2004). Para se ligar nesses receptores, os vírus possuem uma proteína de membrana a qual possui afinidade com esse, denominada proteína S (*spike*), através dessa ligação a membrana do vírus se funde com a membrana da célula possibilitando a entrada do material do genético na célula, estabelecendo a infecção (YAN *et al.*, 2020).

Essa enzima além de estar expressa por diversas partes do corpo, ela ainda possui uma variedade de funções, dentre a principal é a regulação do sistema renina-angiotensina na manutenção do organismo. O estudo de NI *et al.* (2020) cita que o alinhamento negativo da enzima com o vírus pode gerar lesões múltiplas nos órgãos, dentre as mais comuns estão as lesões cardíacas, mas também pode gerar lesões renais, hepáticas, gastrointestinais, pulmonares, endoteliais e até no sistema nervoso central (CHEN *et al.*, 2020).

Em razão da pandemia da COVID-19 ser atual e ainda alvo de estudos, a presente pesquisa visa demonstrar de maneira simples e eficaz a importância dos marcadores laboratoriais associados à ocorrência de complicações. O diagnóstico preciso da infecção pelo coronavírus enfrenta muitos obstáculos por se apresentar de

diferentes maneiras em cada indivíduo, apresentando sinais e sintomas variados e podendo acometer diferentes partes do organismo pela sua fisiopatologia diversificada. Por todos esses aspectos, o objetivo deste trabalho é demonstrar a fisiopatologia do vírus em cada parte do organismo associado aos marcadores laboratoriais relacionados com a gravidade da infecção.

## 2 METODOLOGIA

O presente estudo será realizado através de uma pesquisa bibliográfica de caráter exploratório e qualitativo contendo dados, conceitos e técnicas retirados de artigos científicos, teses e dissertações sobre o tema em bibliotecas, sites e plataformas online como ScieLO, PubMed e o Google Acadêmico, A fim de obter um trabalho com temas mais atuais, será dada preferência para trabalhos publicados nos últimos dez anos (2013 a 2023). As buscas ocorreram pela seleção das palavras-chave e pela restrição do período das publicações. Em seguida, foram realizadas as leituras, fichamentos e resenhas dos artigos, os quais serviram de embasamento teórico para a construção do trabalho final. Os critérios de inclusão foram: artigos em português, inglês e espanhol, entre os anos de 2019 e 2023 que se tratasse de uma abordagem dos aspectos envolvidos com o marcadores laboratoriais relacionados com a gravidade de infecção pelo coronavírus SARS-CoV-2. E, os critérios de exclusão foram: teses, artigos duplicados, dissertações, monografias e resumos.

## 3 DESENVOLVIMENTO

### 3.1 Classificação e morfologia viral

De acordo com o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV) o Sars-CoV-2 foi classificado como um vírus da espécie *Severe acute respiratory syndrome-related Coronavirus* (SARS-CoV), o qual pertence ao gênero *Betacoronavirus*, família *Coronaviridae*, ordem *Nidovirales* (GORBALENYA *et al.*, 2020). Os coronavírus são vírus envelopados, nucleocapsídeo com genoma de RNA de fita simples e de polaridade positiva, composto por aproximadamente 30.000 pares de bases (HUANG *et al.*, 2020). A estrutura do vírus é sustentada por uma matriz proteica que forma uma

camada entre o envelope viral e o núcleo viral, onde estão localizadas as proteínas de superfície, proteína S (spike), proteína M (membrana) e proteína E (envelope) (SCHOEMAN; FIELDING, 2019).

A proteína S é dividida em duas regiões, S1 (subunidade de ligação ao receptor) e S2 (subunidade de fusão de membranas). A região S1 inclui os domínios de ligação ao receptor que são responsáveis pelo reconhecimento e ligação do vírus ao receptor específico da célula hospedeira, fundamental para o tropismo celular e capacidade de transmissão viral. Possui ainda, uma região entre S1 e S2 que contém sítios de clivagem para ação de proteases celulares que promove a mudança de conformação da subunidade S2 possibilitando assim a penetração do vírus na célula hospedeira (ALMEIDA *et al.*, 2020). Os trímeros da proteína S formam as espículas da superfície do vírus as quais dão a aparência de coroa o que confere a origem da nomenclatura coronavírus (HELMY *et al.*, 2020).

A proteína E é a menor e menos abundante, sua atividade aumenta no período de replicação na célula hospedeira, onde é expressa em maiores quantidades para auxiliar na montagem da partícula viral e brotamento. Já a proteína M é a mais abundante, confere o suporte estrutural do vírus e forma o envelope, além de atuar na montagem das partículas virais. Essa proteína pode estar associada com uma quarta, a proteína N, que estabiliza o nucleocapsídeo. A proteína N está envolvida na síntese e tradução do RNA, favorecendo a replicação viral (CHEN *et al.*, 2020).

### 3.2 Fisiopatologia

O principal mecanismo de infecção pelo SARS-CoV-2 é através da interação entre a proteína S e a enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2), por meio desta, é possível a penetração da partícula viral na célula hospedeira seguida do desnudamento do material genético e acelerada replicação viral, desencadeando alterações vasculares e epiteliais no tecido alcançado. Deste modo, os danos no epitélio promovem o extravasamento de conteúdos celulares, bem como leucócitos do plasma sanguíneo, incluindo as partículas virais que estavam presentes no interior da célula hospedeira, fazendo com que o vírus alcance outras células para prosseguir com seu ciclo evolutivo (CHENG *et al.*, 2020).

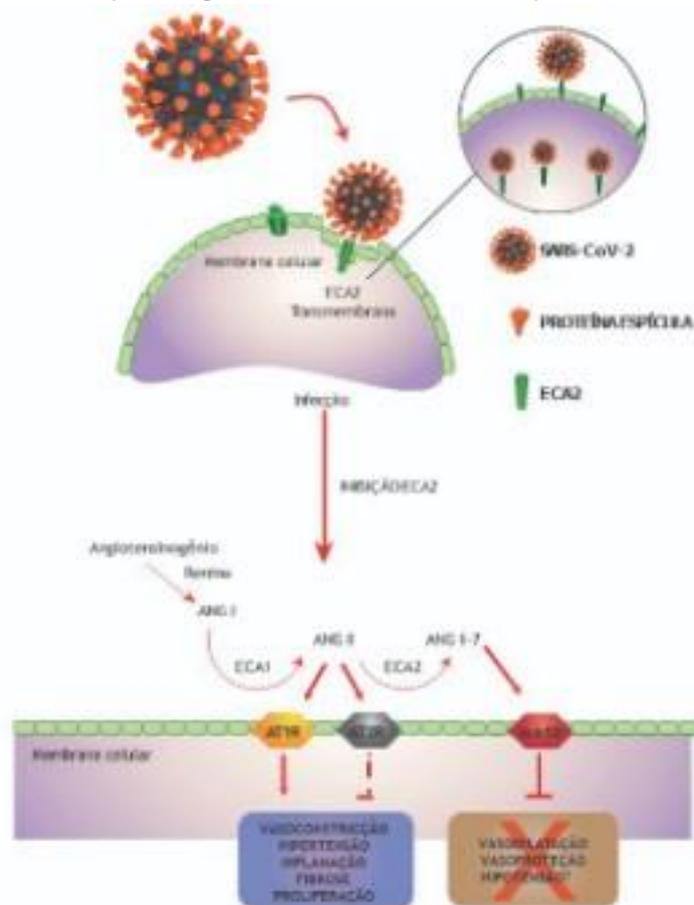
Com o intuito de combater a progressão do ciclo evolutivo do vírus, o sistema imune possui reações iniciais através da resposta imune inata e tardia através da resposta imune adaptativa. Esse processo se inicia quando há o reconhecimento do vírus na célula humana, mediante a produção de citocinas, dentre as principais o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e o interferon gama (IFN- $\gamma$ ). O primeiro é responsável pela ativação dos neutrófilos, viabilização da coagulação e atua promovendo a febre, já o segundo induz a atividade macrófaga para destruição do patógeno e amplia a produção de citocinas pró-inflamatórias, pró fibróticas e regulatórias do sistema imune (WANG *et al.*, 2020).

De acordo com a intensidade da resposta imunológica do organismo, a infecção por COVID-19 pode atingir 3 fases, sendo a fase 1 como forma mais leve, caracterizada pela presença de febre, tosse seca e fadiga; fase 2 como forma grave, incluindo taquipneia, diminuição na saturação de oxigênio e dispneia; e a fase 3 forma crítica, apresentando sinais de choque circulatório e disfunção de múltiplos órgãos. Quando há uma resposta inflamatória eficiente, a infecção não progride da fase 1, no entanto, se houver uma resposta inflamatória exacerbada, a doença pode evoluir para as fases 2 e 3 (ALHAZZANI *et al.*, 2020).

Ademais, a intensidade da resposta imunológica ao SARS-Cov-2 interfere negativamente nas funções endoteliais e em doenças preexistentes relacionadas ao endotélio, podendo estar associado a gravidade da infecção (BRANDÃO *et al.*, 2020). Essa comunicação é explicada devido ao envolvimento da hiperinflamação pela resposta imune, coagulação e o endotélio, podendo levar à disfunção endotelial generalizada associada a apoptose (WANG *et al.*, 2020).

A ECA2 é um receptor de membrana do tipo I que está expresso por diversas partes do corpo, incluindo órgãos como coração, intestino delgado, rins e nos pulmões onde se concentra nas células alveolares do tipo II e nos macrófagos. Essa enzima possui diversas funções, dentre elas a regulação do sistema renina-angiotensina o qual regula a homeostase do organismo. O alinhamento negativo da enzima posteriormente à infecção pode levar a lesões múltiplas dos órgãos (NI *et al.*, 2020). A figura abaixo demonstra por meio de uma ilustração a fisiopatologia de infecção do vírus na célula.

**Figura 1** - Fisiopatologia do vírus com o receptor da enzima ECA2.



**Fonte:** Brandão *et al.* (2020).

Um estudo demonstrou que existe grande quantidade de ECA2 nos pericitos, células importantes na manutenção dos vasos, na angiogênese. A infecção pelo COVID-19 gera lesões nas células endoteliais dos capilares sanguíneos causando disfunção desses microvasos, estando diretamente relacionada às lesões cardíacas (CHEN *et al.*, 2020). Já o estudo de NI *et al.*, 2020, evidencia a presença de fragmentos semelhantes ao SARS-CoV-2 no epitélio tubular e nos podócitos, células presentes nos glomérulos renais. A lesão endotelial acomete os capilares nas alças glomerulares causando lesão renal aguda e proteinúria.

Com a alta expressão de ECA2 nos colangiócitos, o fígado é dos alvos principais para infecção do Coronavírus, podendo gerar complicações ainda mais graves em pacientes que já possuem distúrbios hepáticos, que podem variar de uma descompensação hepática até uma insuficiência hepática crônica. (JOTHIMANI *et al.*, 2020). No intestino delgado, a presença da ECA2 está nos enterócitos. A infecção

pode causar uma disbiose intestinal e lesões que aumentam a resposta imune do paciente. (HUANG *et al.*, 2020)

Nos pulmões, a infecção pelo Coronavírus leva a um dano alveolar difuso com presença de fragmentos do SARS-Cov-2 nos pneumócitos, edema, hiperplasia dos pneumócitos tipo II, podendo associar as complicações e agravamento dos casos (CARSANA *et al.*, 2020). Na tabela abaixo demonstra as principais células do corpo em que é possível visualizar a ECA2 para associação das complicações que a infecção pelo SARS-CoV-2 pode causar no organismo.

**Tabela 1 - Órgãos com expressão de ECA-2 e suas respectivas células**

<b>Coração</b>	Fibroblastos cardíacos; Miócitos cardíacos; Células endoteliais; Pericitos; Células adiposas epicárdicas
<b>Fígado</b>	Colangiócitos e hepatócitos
<b>Intestino</b>	Enterócitos
<b>Olhos</b>	Células epiteliais pigmentadas; Células fotorreceptoras (cones e bastonetes); Células da glia Müller
<b>Pulmões</b>	Células endoteliais alveolares (tipo II); Vasculatura pulmonar
<b>Rins</b>	Células epiteliais glomerulares; Células epiteliais do túbulo proximal; Podócitos
<b>Sistema Nervoso Central</b>	Órgãos circunventriculares
<b>Vasculatura</b>	Células endoteliais; Células angiogências migratórias; Células de músculo liso vasculares
<b>Vias aéreas superiores</b>	Células endoteliais ciliadas/ Células calciformes

**Fonte:** Carvalho *et al.* (2020).

### 3.3 COVID-19 - marcadores bioquímicos

Os biomarcadores são características quantificáveis de processos biológicos que podem ser medidos experimentalmente para determinar uma função fisiológica, patológica ou em resposta a algum agente farmacológico no organismo. Dentre esses marcadores bioquímicos alguns se destacam como forma de prever o prognóstico de pacientes com COVID-19. Sendo posto que, a infecção pelo SARS-CoV-2 possui acometimento sistêmico que pode variar de pessoa para pessoa, atentando-se ainda para a presença de comorbidades ou não, o conhecimento desses marcadores são

importantes para distinguir a gravidade da resposta à infecção e para um bom prognóstico (ALMEIDA *et al.*, 2020). Quando o organismo está em algum processo infeccioso, as funções estão comprometidas e, conseqüentemente, os biomarcadores estarão alterados. A infecção por COVID-19 promove uma tempestade de citocinas que altera todo o painel hematológico do paciente, além de poder gerar lesões celulares em diferentes tecidos aumentando os biomarcadores relacionados a diferentes partes do organismo (HUANG *et al.*, 2020). Dentre esses biomarcadores, podem haver os que apenas demonstram um processo infeccioso no organismo até os que demonstram casos mais graves e que podem prever o prognóstico da doença. Os achados comumente associados aos piores desfechos estão dímero-D, proteína C reativa (PCR), lactato desidrogenase (LDH) e a troponina I cardíaca de alta sensibilidade (ALMEIDA *et al.*, 2021).

### 3.3.1 COVID-19 - alterações hematológicas

Testes hematológicos incluindo o hemograma completo e estudos da coagulação em pacientes diagnosticados para COVID-19 demonstram graus variáveis de alterações de acordo com o sistema imune do paciente e com a gravidade da doença (LIPPI; PLEBANI, 2020). A identificação dessas alterações precocemente pode contribuir para o prognóstico do paciente, principalmente quando os sinais e sintomas são inespecíficos (OLIVEIRA *et al.*, 2020). Podendo, ainda, auxiliar em um diagnóstico eficiente quando o teste molecular fornece resultado negativo, sendo necessário aguardar um período para repetir.

O estudo de Al-Saadi *et al.*, 2020, classificou as alterações hematológicas de acordo com a gravidade da infecção. Em pacientes com a infecção leve, demonstraram que as alterações eram pequenas, como presença de linfopenia e neutropenia (LIPPI; PLEBANI, 2020), e eosinopenia que ofereceu maiores resultados para um possível diagnóstico eficiente (NI *et al.*, 2020). Já em outros casos, a linfopenia e a neutrofilia são características da doença grave por COVID-19. Muitos estudos sugeriram que essa relação linfócito-neutrófilo é um dos fatores de risco para a mortalidade de pacientes severos (XU *et al.*, 2020).

A fisiopatologia da linfopenia e o curso da doença pode estar associada à

progressão gradual da infecção que leva a diferentes desfechos. Durante a fase inicial, no período de incubação do vírus, é possível que a contagem de linfócitos ainda esteja normal (CHEN *et al.*, 2020). À medida que o vírus consegue promover sua replicação e se espalhar pelos tecidos com a alta expressão de ECA2, os sinais clínicos já ficam mais evidentes. Nessa etapa, a contagem de linfócitos possui queda significativa, bem como o aumento dos marcadores relacionados à inflamação (LI *et al.*, 2020). A tempestade de citocinas promove a apoptose dos linfócitos, contribuindo ainda mais para essa queda (AGGARWAL *et al.*, 2020).

Outra alteração hematológica observada é a trombocitopenia, que consiste na redução do número de plaquetas, e ela mostrou significativamente mais pronunciada quando relacionada à infecção por COVID-19 (LIPPI & PLEBANI, 2020). A fisiopatologia relacionada a esse aumento foi explicada através da ligação do vírus à células da medula óssea, como monócitos, granulócitos e os megacariócitos, através de um receptor comum expresso por essas células, levando ao crescimento exacerbado e apoptose na medula óssea (XU *et al.*, 2020).

Além da diminuição da produção de plaquetas, existe outra hipótese que associou a infecção por COVID-19 ao aumento da destruição plaquetária. Isso se deu a partir de um processo semelhante ao de pacientes infectados por Vírus da imunodeficiência humana - 1 (HIV-1), os quais formam anticorpos autoimunes e combatem as próprias células. Foi proposto que os epítomos virais funcionam como antígenos presentes na superfície das plaquetas e levariam a formação de anticorpos, assim os complexos formados plaquetas-anticorpos seriam destruídos por meio de uma resposta imunomediada (XU *et al.*, 2020)

Outros mecanismos foram propostos associando as variações dos parâmetros inflamatórios e de coagulação de pacientes infectados pelo SARS-COV-2. Como em qualquer descompensação fisiológica que leva a falência de múltiplos órgãos, o dano endotelial desencadeado por uma resposta inflamatória sistêmica leva à hiperativação de plaquetas e trombose, causando o consumo disseminado dessas plaquetas (LIPPI; PLEBANI, 2020).

### 3.3.2 COVID-19 - alterações na coagulação

Foram descritas muitas anormalidades na coagulação e acidente vascular cerebral (AVC) de grandes vasos em pacientes infectados por COVID-19, preconizando que a dosagem de marcadores de trombose pode ter grande importância prognóstica (OXLEY *et al.*, 2020). A infecção pelo SARS-CoV-2 pode levar a indução de um estado pró-trombótico, que se deve pela ação direta e agressiva do vírus sobre o endotélio vascular.

Os processos de ativação do complemento, inflamação e coagulação estão diretamente relacionados pois, essa relação é explicada pelo fato do vírus ser responsável pela ativação da tempestade de citocinas que, conseqüentemente, ativam os fatores de coagulação. Além desse mecanismo, a inibição da ECA2 causada pela ligação do SARS-Cov-2 também gera a ativação da cascata de coagulação (NERI *et al.*, 2021).

Através disso, com a degradação dos trombos e equilíbrio da hemostasia, pela fibrinólise, ocorre uma intensa formação de produtos da degradação de fibrina (PDFs), como o D-dímero. É importante ressaltar que essa proteína possui baixa especificidade, podendo estar elevada em outras condições como gravidez, sepse, inflamação, entre outros. Na COVID-19, quando estão aumentadas, sugerem um quadro de tromboembolismo venoso e embolia pulmonar seguida de gerar uma incompatibilidade entre ventilação e perfusão. (JOSÉ, MANUEL, 2020)

Outras alterações laboratoriais relacionadas à coagulação demonstraram importantes, sendo associadas ao risco de morte de pacientes infectados pelo SARS-CoV-2, como trombocitopenia e tempo de protrombina (TP) prolongados. Sabendo que a contagem de plaquetas restaurado durante a hospitalização prediz a sobrevida do paciente, como demonstrado no estudo de Chen *et al.* (2020).

Assim, sabendo que a infecção por COVID-19 possui o acometimento vascular, com a dosagem dos achados laboratoriais relacionados com coagulação é possível explicar a carga trombótica de pacientes leves e gravemente afetados e intervenções terapêuticas eficientes para melhores resultados.

### 3.3.3 COVID-19 - alterações inflamatórias

A internalização do vírus mediante a ligação aos receptores de ECA2 resulta na desregulação do sistema renina-angiotensina, contribuindo para inflamação e complicações circulatórias. Estima-se que a mortalidade em pacientes graves está associada à tempestade de citocinas caracterizada pela presença exacerbada de citocinas pró-inflamatórias. Bem como, a elevação de alguns marcadores inflamatórios como procalcitonina, PCR, velocidade de hemossedimentação (VHS), amilóide A sérico e ferritina (GOMEZ-PASTORA *et al.*, 2020).

A ferritina é classificada como uma proteína citosólica, a qual desempenha papel essencial no metabolismo celular e ainda, possui a função de ligação e armazenamento de ferro para proteção de processos vitais (PERRICONE *et al.*, 2020). É produzida pelo fígado e por macrófagos que é potencializado quando há um processo inflamatório, já que são induzidas por citocinas pró-inflamatórias (RUSCITTI *et al.*, 2020). Portanto, ela está diretamente relacionada à resposta inflamatória aguda, em que níveis elevados demonstram o prognóstico mais agressivo do paciente.

Como algumas citocinas pró-inflamatórias, a ferritina é secretada e liberada pelas macrófagos, as células podem estimular as vias pró-inflamatórias ativando o fator de transcrição nuclear kappa  $\beta$  (NF- $\kappa\beta$ ), aumentando ainda mais a expressão de mediadores pró-inflamatórios e proteínas-alvo (ROSÁRIO *et al.*, 2020). Além disso, existe uma subunidade L presente na ferritina que é capaz de aumentar diretamente a expressão de citocinas inflamatórias, intensificando a tempestade de citocinas (RUSCITTI *et al.*, 2020).

Em suma, a intensa resposta inflamatória provocada pelo SARS-COV-2 se deve pela proliferação exacerbada de citocinas inflamatórias advindas da tempestade de citocinas. Tal fenômeno conduz a uma cascata de eventos que culmina em danos teciduais e disfunções sistêmicas (SMITH *et al.*, 2020; CHEN *et al.*, 2021).

### 3.3.4 COVID-19 - alterações pulmonares

A infecção por SARS-Cov-2 pode comprometer a fisiologia pulmonar e pode levar os pacientes aos estados críticos. Isso se deve pela capacidade do vírus em infectar as células do sistema imune, como macrófagos, monócitos, células

dendríticas e linfócitos, impedindo que esses exerçam sua função corretamente, tendo uma resposta inflamatória exacerbada. Essa resposta permite a liberação de citocinas pró-inflamatórias e o recrutamento de mais leucócitos lesionando o tecido pulmonar (HUANG *et al.*, 2020).

Tendo ainda que a ECA2 se concentra principalmente nas células epiteliais alveolares nos pulmões, ela possibilita a ligação desse vírus ativando as respostas imunológicas inata e adaptativa. Consequentemente, há uma liberação exacerbada de citocinas, dentre elas a IL-6, as quais aumentam a permeabilidade vascular, alterando a estrutura dos alvéolos e impossibilitando de realizarem com eficiência as trocas gasosas essenciais para oxigenação do sangue, provocando hipoxemia nos pacientes (HUANG *et al.*, 2020).

Além disso, em alguns pacientes podem apresentar exsudato e fibrose nos bronquíolos terminais e nas paredes alveolares, comprometendo ainda mais as trocas gasosas com os capilares sanguíneos, seguida de insuficiência respiratória (CHEN *et al.*, 2020). Para demonstrar os efeitos da infecção, o uso da tomografia para investigação de pneumonia é eficiente. O estudo de Huang *et al.*, 2020, demonstrou que pacientes infectados possuíam acometimento bilateral. Bem como, achados radiológicos como a consolidação bilateral mostram que o quadro respiratório desses pacientes evoluiu para síndrome respiratória aguda grave e hipoxemia.

### 3.3.5 COVID-19 - alterações hepáticas

De acordo com o estudo de Chen *et al.*, 2020, o receptor de ECA2 está presente no fígado e no ducto biliar, ou seja, nos hepatócitos e nos colangiócitos, respectivamente, o que sugere que o SARS-CoV-2 pode infectar o sistema hepatobiliar e levar a alterações bioquímicas, podendo desregular diretamente as funções hepáticas (CHEN *et al.*, 2020).

As lesões hepáticas em infecções pelo novo coronavírus podem ser causadas diretamente pelo vírus através da ligação com os receptores, como também pode estar relacionada aos danos imunológicos, resposta imunológica sistêmica e isquemia ou hipóxia dos hepatócitos (NI *et al.*, 2020).

As aminotransferases são indicadores sensíveis de lesão dos hepatócitos,

servindo para avaliar o comprometimento do fígado. Dentre elas, a que merece maior atenção quando se refere ao sistema hepático é a alanina aminotransferase (ALT) pois está presente em altas concentrações neste órgão e muito baixa em outros, podendo trazer maior especificidade na indicação de uma injúria hepática (LIMA *et al.*, 2020).

Já, o estudo de Effenberger *et al.* (2020) relacionou o aspartato aminotransferase (AST) tanto para a investigação de um dano hepático como para determinar a gravidade da infecção, uma vez que esse biomarcador além de estar presente no fígado também pode ser encontrado nos músculos cardíacos e esqueléticos, rins, cérebro, pâncreas e pulmões, podendo indicar, quando elevado, casos de danos celulares nesses órgãos.

Outra versão apresenta uma correlação direta entre resposta inflamatória sistêmica mediada pelos marcadores ferritina, PCR e IL-6 e danos hepáticos. A produção da IL-6 pode resultar de células imunes, endoteliais, fibroblastos e hepatócitos que promovem a resposta de fase aguda hepática (EFFENBERGER *et al.*, 2021).

### 3.3.6 COVID-19 - alterações cardiovasculares

A COVID-19 pode ter efeitos diretos e indiretos no sistema cardiovascular, já que o processo inflamatório, tempestade de citocinas e lesão pulmonar estão ligados à essa doença (KHAN *et al.*, 2020). Além disso, há uma alta expressão do receptor ECA 2 no coração, em que se concentram nos miócitos cardíacos e pericitos (MCCRACKEN *et al.*, 2021). Em razão disso, a infecção pelo SARS-CoV-2 pode danificar os cardiomiócitos através da ligação aos receptores ECA2 e gerar processos inflamatórios.

Por outro lado, os sintomas cardiovasculares nos pacientes infectados por COVID-19 ocorrem como resultado respostas inflamatórias sistêmicas, disfunção do sistema imune e, também, o desequilíbrio do fornecimento de oxigênio ao miocárdio causado pela síndrome respiratória aguda (TAN *et al.*, 2020). Portanto, pacientes com a infecção podem apresentar várias manifestações clínicas, como lesões miocárdicas, arritmia e até parada cardíaca, já em pacientes com a infecção juntamente com

alguma doença crônica pode apresentar maiores gravidades de pneumonia e outros sintomas (HUANG *et al.*, 2020).

A infecção pelo SARS-CoV-2 pode causar lesões agudas ao miocárdio como também lesões crônicas que estão relacionados com esse dano direto a inflamação sistêmica, fibrose intersticial do miocárdio, cardiomiócitos, desestabilização da placa coronariana, resposta exacerbada frente às citocinas e resposta imunes mediadas pelo interferon- $\gamma$  (BABAPOOR-FARROKHRAN *et al.*, 2020). Foi determinado que essas lesões ao miocárdio são evidenciadas pelo aumento dos níveis de troponina (HUANG *et al.*, 2020).

Outros achados laboratoriais podem ser encontrados, como o estudo de Zeng *et al.*, (2020) demonstrou o aumento do TP e a diminuição dos linfócitos ao longo do tempo, bem como o aumento dos níveis séricos de ureia, peptídeo natriurético tipo B (BNP), PCR e procalcitonina. No estudo de Shi *et al.*, (2020), foram destacados os níveis elevados de PCR e de procalcitonina, como também foi observado na análise de Demertizis *et al.*, (2020) através de seus estudos apresentando alterações na quantidade de linfócitos, elevação da troponina, creatinofosfoquinase (CPK) e LDH.

Fleury (2020) afirma em seu estudo que o acompanhamento da linfopenia dos pacientes infectados são de suma importância com relação à evolução clínica do paciente, visto que, quando estão em processo de melhora, os níveis de linfócitos aumentam, enquanto que, quando estão em processo de piora, os níveis de linfócitos estão em queda. Enquanto o aumento do TP geralmente em casos mais graves, demonstram uma desordem na coagulação e fibrinólise no organismo, agravando as alterações cardiovasculares (BATSCHAUER & JOVITA, 2020).

O aumento dos níveis de outros marcadores, como a ureia, BNP e CPK demonstra a possibilidade da ligação do SARS-CoV-2 a consequências como e imunodeficiência celular, coagulação exacerbada e lesão células e variados órgãos (ZENG *et al.*, 2020; DEMERTZIS *et al.*, 2020). Já, os indicadores como PCR e procalcitonina aumentados em pacientes que já passaram por uma lesão cardíaca demonstram o agravamento da doença, podendo levar a apoptose das células miocárdicas (SHI *et al.*, 2020). Tal qual o aumento dos níveis de LDH, já que são encontrados em todas as células (FLEURY, 2020).

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O início da pandemia da COVID-19 foi algo inesperado, exigiu que profissionais da saúde tivessem flexibilidade frente aos desafios da infecção. Esse trabalho pretendeu apresentar a importância dos principais marcadores laboratoriais que estimam a gravidade da infecção pelo SARS-Cov-2, demonstrando a relação entre a fisiopatologia dos marcadores e os sistemas do organismo os quais estão relacionados, a partir de pesquisas bibliográficas e artigos científicos presentes em plataformas digitais.

A análise permite buscar a funcionalidade de cada biomarcador, bem como associar ao órgão acometido em diferentes níveis da infecção, colaborando com o prognóstico, como também auxiliar profissionais da saúde na tomada de decisões e manejo desses pacientes, viabilizando o diagnóstico preciso da doença. Tais achados destacam a necessidade de uma abordagem multidisciplinar para o gerenciamento desses pacientes, visando a prevenção de complicações e de formas mais graves da doença.

## REFERÊNCIAS

AGGARWAL *et al.* Clinical features, laboratory characteristics, and outcomes of patients hospitalized with coronavirus disease 2019 (COVID-19): Early report from the United States. **De Gruyter**. Abril, 2020.

ALHAZZANI *et al.* Surviving Sepsis Campaign: guidelines on the management of critically ill adults with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). **Intensive care medicine**. Março, 2020.

ALMEIDA *et al.* Marcadores bioquímicos na COVID-19: Uma revisão na literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. 2021.

ALMEIDA *et al.* COVID-19: Fisiopatologia e Alvos para Intervenção Terapêutica. **Revista Virtual de Química**. Setembro, 2020.

AL-SAADY & ABDULNAB. Hematological changes associated with COVID-19 infection. **Wiley Periodicals LLC**. Setembro, 2021.

AQUINO *et al.* Influência do DM2 e do Controle Glicêmico no Prognóstico de Pacientes Infectados por COVID-19. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 4, p. 11120-11130, Julho/ Agosto 2020.

BATSCHAUER & JOVITA. Hemostasia e COVID-19: fisiopatologia, exames

laboratoriais e terapia anticoagulante. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Agosto 2020.

BABAPOOR-FARROKHRAN *et al.* Myocardial injury and COVID-19: Possible mechanisms. **Life Sciences**, v. 253. Julho, 2020.

BRANDÃO *et al.* COVID-19 grave: entenda o papel da imunidade, do endotélio e da coagulação na prática clínica. **Jornal Vascular Brasileiro**. Novembro, 2020.

CARSANA *et al.* Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from northern Italy: a two-centre descriptive study. **The Lancet, Infections diseases**, v. 20, p. 1135-1140. Outubro, 2020.

COSTA SAMPAIO *et al.* O papel do ferro e da ferritina na fisiopatologia e como marcador laboratorial na COVID-19. **Revista Ciências em Saúde**, v.12, p. 12-21. Agosto de 2022.

CHEN *et al.*, Analysis of myocardial injury in patients with COVID-19 and association between concomitant cardiovascular diseases and severity of COVID-19. **Chin J Cardiol** 2020;48:E008. 2020.

CIOTTI *et al.* The COVID-19 pandemic. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 57, p. 365-388. Junho, 2020.

DE CARVALHO *et al.* Fatores Preditivos para Evolução Grave do Paciente com COVID-19. **Brazilian Journal of Health Review**, p. 10852-10860, Agosto 2020.

DE LIMA, Fábio Santos. Etiologia das lesões hepáticas em pacientes com COVID-19: uma revisão de literatura. **Biblioteca Setorial do Centro de Ciências da Saúde - CCS**. Novembro, 2020.

DE SOUSA *et al.* Alterações Cardíacas Causadas por Infecção pelo novo Coronavírus. **Researchgate**, v. 1, c. 14, p. 192-206, Abril, 2021.

DEMERTZIS & EYERMAN. Covid-19 as cultural trauma. **American Journal of Cultural Sociology**. Setembro, 2020.

EFFENBERGER, *et al.* Systemic inflammation as fuel for acute liver injury in COVID-19. **Elsevier**, v.53, p. 158-165. Fevereiro, 2021.

ESTEVÃO, Amélia. COVID-19. **Acta Radiológica Portuguesa**, v. 32. Janeiro-Abril, 2020. MACEDO JÚNIOR, A. M. COVID-19: Calamidade pública. **Medicus**, v.1, n.1, p.1-6, 2020.

FERNANDÉZ *et al.* Marcadores de Daño Miocárdico en la Predicción del Pronóstico a Corto Plazo de los Pacientes con COVID-19. **Revista Española de Cardiología**, v. 74, p. 576-583, Julho 2021.

GOMEZ-PASTORA *et al.* Hyperferritinemia in critically ill COVID-19 patients - Is ferritin the product of inflammation or a pathogenic mediator? **Clinica Chimica Acta**.

Outubro, 2020.

GORBALENYA *et al.* Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: The species and its viruses - a statement of the Coronavirus Study Group. **The preprint server for biology**. February, 2020.

HAMMING *et al.* Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understand SARS pathogenesis. **The Journal of Pathology**. Maio, 2004.

HELMY *et al.* The COVID-19 pandemic: A Comprehensive Review of Taxonomy Genetics, Epidemiology, Diagnosis, Treatment and Control. **Journal of Clinical Medicine**. Março, 2020.

HENRY *et al.* Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. **Clin Chen Lab Med**, v. 8, p. 1021-1028, Março, 2020.

HU *et al.* Coronavirus fulminant myocarditis treated with glucocorticoid and human immunoglobulin. **European Heart Journal**, V. 42, P. 206. Janeiro, 2021.

HUANG *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **Lancet** 2020;395:497–506. 2020.

JIANG *et al.* Increased Levels of Ferritin on Admissions Predicts Intensive care unit mortality in patients with COVID-19. **Science Direct**, v. 156, p. 324-331, Abril, 2021.

JOTHIMANI *et al.* COVID-19 and the liver. **Journal of Hepatology**, v. 73, p. 1231-1240. Novembro, 2020.

JOSÉ & MANUEL. COVID-19 cytokine storm: the interplay between inflammation and coagulation. **The Lancet, Respiratory Medicine**, v. 8. Junho, 2020.

KHAN *et al.* Epidemiological and clinical characteristics of coronavirus disease (COVID-19) cases at a screening clinic during the early outbreak period: a single-centre study. **Journal of Medical Microbiology**, v. 69. Agosto, 2020.

LIMA *et al.* The Emotional Impact of Coronavirus 2019-nCoV (New Coronavirus Disease). **Psychiatry Research**, 287. Dezembro, 2020.

LIPPI & PLEBANI. Procalcitonin in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): A meta-analysis. **Clinica Chimica Acta**, v. 505. Junho, 2020.

MARIN *et al.* Predictors of COVID-19 severity: A literature review. **HHS Public Access**, v. 31, p. 1-10, Janeiro, 2021.

MARTIN *et al.* História e Epidemiologia da COVID-19. **Ulakes Journal od Medicine**, v. 1, Julho 2020.

MCCRACKEN *et al.* Lack of Evidence of Angiotensin-Converting Enzyme 2

Expression and Replicative Infection by SARS-CoV-2 in Human Endothelial Cells. **Circulation**, v. 143, n. 8. Janeiro, 2021.

MEDEIROS *et al.* Relação entre os níveis de ferritina e o prognóstico da COVID-19. **Revista de Medicina**, v. 101, n.1, Fevereiro de 2022.

MINA *et al.* Hematological manifestations of COVID-19. **Taylor and Francis group**. Julho, 2020.

NASCIMENTO, GOMES & OLIVEIRA. Troponina Cardíaca como Preditor de Injúria Miocárdica e Mortalidade por COVID-19. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 115, p. 667-668, 2020.

NERI *et al.* Análise da alteração do D-dímero em pacientes com COVID-19. **Hematology, transfusion and cell therapy**, v. 43, p. 239-240, Outubro 2021.

NI *et al.* Detection os SARS-CoV-2-Specific Humoral and Cellular Immunity in COVID convalescent individuals. **Elsevier**, p. 971-977. Maio, 2020.

OLIVEIRA-TOLEDO *et al.* COVID-19: Review and hematologic impact. **Clinica Chimica Acta**, v. 510, p. 170-176. Novembro, 2020.

OXLEY *et al.* Large-Vessel Stroke as a Presenting Feature of Covid-19 in the Young. **The New England Journal of Medicine**. Abril, 2020.

PERRICONE *et al.* The anti-viral facet of anti-rheumatic drugs: Lessons from COVID-19. **Journal of Autoimmunity**, v. 111. Julho, 2020.

PIMENTEL *et al.* A disseminação da Covid-19: um papel expectante e preventivo de saúde global. **J Hum Growth Dev**, 30(1):135-140. Março, 2020.

PONTI *et al.* Biomarkers associated with COVID-19 disease progression. **Taylor and Francis group**. Maio, 2020.

ROSÁRIO, BAPTISTA & MATTA. Sentidos da universalidade na VIII Conferência Nacional de Saúde: entre o conceito ampliado de saúde e a ampliação do acesso a serviços de saúde. **Saúde em debate 44**. Março, 2020.

RUSCITTI *et al.* Severe COVID-19, Another Piece in the Puzzle of the Hyperferritinemic Syndrome. An Immunomodulatory Perspective to Alleviate the Storm. **Frontiers in immunology**, v. 11, artigo 1130. Maio, 2020.

SCHOEMAN & FIELDING. Coronavirus envelope protein: current knowledge. **Virology Journal**, v. 69. Maio 2019.

SHI *et al.* Impact of temperature on the dynamics of the COVID-19 outbreak in China. **Science of The Total Environment**, v. 728. Agosto, 2020.

SMITH *et al.* Cytokine release syndrome and the prospects for immunotherapy with COVID-19, part 1: The cytokine storm. **Cleveland Clinic Journal of Medicine**,

87(3), p. 1-7. 2020.

TAJBAKHSI *et al.* COVID-19 and cardiac injury - clinical manifestations biomarkers mechanisms diagnosis treatment and follow up. **Expert review**, Taylor & Francis group. Setembro, 2020.

TAN *et al.* Cardiac manifestations of patients with COVID-19 pneumonia and related treatment recommendations. **Pubmed** - artigo em chinês (traduzido em inglês). Março, 2020.

WANG *et al.* Immediate Psychological responses and associated factors during the initial stage of the 2019 Coronavirus Disease (COVID-19) Epidemic among the general Population en China. **Internacional Journal of environmental research and public health**. Março, 2020.

WHO *et al.* Multisystem inflammatory syndrome in children and adolescents temporally related to COVID-19. **World Health Organization**. 2020 WU C-I, et al. SARS-CoV-2, COVID-19 and inherited arrhythmia syndromes. **Heart Rhythm** 2020. Setembro, 2020.

XU *et al.* Mechanism of thrombocytopenia in COVID-19 patients. **Annals of Hematology**, v. 99, p. 1205-1208. Abril, 2020.

YAN *et al.* Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. **Science Journal**. Março, 2020.

ZENG *et al.* Association of inflammatory markers with the severity of COVID-19: A meta-analysis. **International Journal of infectious Diseases**, v. 96, p. 467-474. Julho, 2020.

ZHANG *et al.* Cytokine release syndrome in severe COVID-19: interleukin-6 receptor antagonist tocilizumab may be the key to reduce mortality. **International Journal of antimicrobial Agents**, v. 55, ELSEVIER, março, 2020.

ZHANG *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. **Intensive Care Med** 2020;46:585–90. Março, 2020.

# PERSPECTIVAS GENÉTICAS SOBRE A ESQUIZOFRENIA

## GENETIC PERSPECTIVES ON SCHIZOPHRENIA

André Gustavo de Souza Anselmo<sup>1</sup>

Andressa Megumi Niwa<sup>2</sup>

### RESUMO

Esquizofrenia é um transtorno neuropsiquiátrico que afeta cerca de 1% da população mundial, apresentando uma herdabilidade de até 80%. Tal doença é marcada por diferentes sintomas, como déficit cognitivo, delírios e queda gradativa na vigilância com aparência física e higiene pessoal. Com a progressão da esquizofrenia, o paciente pode desenvolver sintomas mais graves, como alucinações frequentes, comportamento catatônico, desconexão com a realidade, ansiedade generalizada, depressão profunda e déficit de inteligência emocional. Para maior credibilidade ao presente trabalho, foram utilizados artigos científicos, teses e dissertações disponíveis em sites, plataformas e bibliotecas, com foco em estudos publicados, preferencialmente, nos últimos quinze anos. De acordo com alguns estudos utilizados para essa revisão bibliográfica, influências ambientais, como complicações obstétricas e estresse materno durante o período gestacional, podem interferir na funcionalidade do eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA) e na liberação de citocinas inflamatórias, podendo afetar o neurodesenvolvimento fetal e influenciar as alterações estruturais e funcionais presentes no tecido nervoso de pacientes esquizofrênicos. Além disso, estudos indicaram que desregulações nos sistemas glutamatérgicos e dopaminérgicos podem levar às alterações fisiológicas que desencadeiam os sintomas psicóticos. Outras evidências demonstraram expressão anormal de genes e proteínas relacionadas ao metabolismo energético, resposta inflamatória e neurodesenvolvimento, como sinaptogênese e processo de mielinização, além de anormalidades cromossômicas. É observado, portanto, grande interferência genética na esquizofrenia. A compreensão dessa influência pode auxiliar em melhores métodos de diagnóstico e tratamento, com desenvolvimento de fármacos mais efetivos, visando uma melhor qualidade de vida para os pacientes.

**Palavras-chave:** esquizofrenia; proteínas; expressão gênica; neurodesenvolvimento.

### ABSTRACT

Schizophrenia is a neuropsychiatric disorder that affects about 1% of the world's population, with an heritability of up to 80%. This disease is marked by different symptoms, such as cognitive deficit, delusions and a gradual decrease in vigilance with physical appearance and personal hygiene. With the progression of schizophrenia, the patient may develop more severe symptoms such as frequent hallucinations, catatonic

<sup>1</sup> Discente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). E-mail: andregsanselmo@edu.unifil.br.

<sup>2</sup> Docente de ensino superior no Centro Universitário Filadélfia (UniFil). E-mail: andressa.niwa@unifil.br.

behavior, disconnection from reality, generalized anxiety, deep depression and emotional intelligence deficit. For greater credibility to the present work, scientific articles, theses and dissertations available on websites, platforms and libraries were used, focusing on studies published, preferably, in the last fifteen years. According to some studies used for this literature review, environmental influences, such as obstetric complications and maternal stress during the gestational period, may interfere with the functionality of the Hypothalamus-Pituitary-Adrenal (HPA) axis and the release of inflammatory cytokines, which may affect neurodevelopment. fetal growth and influence the structural and functional alterations present in the nervous tissue of schizophrenic patients. Furthermore, studies have indicated that dysregulations in the glutamatergic and dopaminergic systems can lead to the physiological changes that trigger psychotic symptoms. Other evidence has demonstrated abnormal expression of genes and proteins related to energy metabolism, inflammatory response and neurodevelopment, such as synaptogenesis and myelination process, in addition to chromosomal abnormalities. Therefore, great genetic interference is observed in schizophrenia. Understanding this influence can help in better methods of diagnosis and treatment, with the development of more effective drugs, aiming at a better quality of life for patients.

**Keywords:** schizophrenia. proteins. gene expression. neurodevelopment.

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre os diversos tipos de transtornos mentais e distúrbios neurobiológicos existentes encontra-se a esquizofrenia, um transtorno neuropsiquiátrico multifatorial do tipo psicótico, cujos sintomas incluem déficit cognitivo, delírios e queda gradativa na vigilância com a aparência física, higiene pessoal, alucinações frequentes, comportamento catatônico, desconexão com a realidade, ansiedade generalizada, depressão profunda e déficit de inteligência emocional (ARDER; CANNON, 2019; CLÍNICA PSIQUIÁTRICA, 2011).

Evidências científicas apontam fatores epigenéticos envolvendo metilação de histonas e do material genético. Expressão anormal de genes e de proteínas associadas ao neurodesenvolvimento, função sináptica, metabolismo energético e processo inflamatório também foram relatados (IBI E GONZÁLEZ-MAESO, 2015; NASCIMENTO; MARTINS-DE-SOUZA, 2014; BRESSAN; PILOWSKY, 2003).

Outros estudos indicam, também, influência do eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA), disfunção de receptores glutamatérgicos, migração de células de defesa para tecidos do sistema nervoso central, níveis alterados de mediadores inflamatórios na corrente sanguínea e alterações cromossômicas (PENEDO et al.,

2020; NASCIMENTO; MARTINS-DE-SOUZA, 2014; GUEST et al., 2012; SCHMITT et al., 2012; HAHMOUNE et al., 2012; CASTRO et al, 2009; BRESSAN; PILOWSKY, 2003).

O estudo das perspectivas genéticas sobre a esquizofrenia, assim como a compreensão da influência gene-ambiente presentes, pode auxiliar no desenvolvimento de métodos de diagnóstico e tratamentos mais efetivos, visando uma melhor qualidade de vida para o paciente.

A partir deste ponto, o presente trabalho aborda alguns dos muitos estudos já disponíveis na literatura científica, revisando as descobertas sobre diferentes genes, proteínas e demais moléculas que podem interferir no desenvolvimento e progressão da esquizofrenia.

## **2 METODOLOGIA**

Utilizando “esquizofrenia”, “genética”, “inflamação”, “sistema dopaminérgico”, “sistema glutamatérgico” e “eixo HPA” como palavras-chave, o presente trabalho foi realizado por meio de pesquisa bibliográfica de caráter exploratório e qualitativo contendo dados, conceitos e técnicas retirados de artigos científicos, teses e dissertações sobre o tema em bibliotecas e plataformas online, como Elsevier, SciELO, PubMed, NEJM, JAMA, Nature e The Lancet. A fim de obter um trabalho com temas mais atuais, foi dada preferência para trabalhos publicados nos últimos quinze anos.

## **3 ESQUIZOFRENIA**

Esquizofrenia, do grego, “cisão da mente”, é uma psicopatologia marcada por diferentes sintomas, que variam desde alucinações a déficit cognitivo e abstração psíquica. No século XIX, Emil Kraepelin descreve a “dementia praecox”, a partir da análise de Benoit Morel, em pacientes jovens com problemas ou “enfraquecimento psíquico”. Bleuler, baseando seus conhecimentos na descrição de Kraepelin, formulou a doença como é conhecida hoje, juntamente com seus quatro subtipos, isto é, esquizofrenia paranóide, hebefrênica, catatônica e simples (CLÍNICA PSIQUIÁTRICA, 2011; NETO, BRESSAN E FILHO, 2007; SILVA, 2006).

Os sintomas padrão da esquizofrenia incluem déficit cognitivo, redução de afetividade, delírios e queda gradativa na vigilância com aparência física e higiene pessoal. Com o tempo, no entanto, o paciente pode apresentar sintomas mais graves, como alucinações frequentes, comportamento catatônico, desconexão com a realidade, ansiedade generalizada, depressão profunda e déficit de inteligência emocional (CLÍNICA PSIQUIÁTRICA, 2011; NETO, BRESSAN E FILHO, 2007; SILVA, 2006).

Com auxílio de análises neuroquímicas e moleculares, foi identificada alteração da atividade dos circuitos glutamatérgico e dopaminérgico, genes relacionados à funcionalidade do eixo HPA, desenvolvimento neural, plasticidade e função sináptica, metabolismo energético e sinalização inflamatória em diversas regiões do sistema nervoso central, como córtex pré-frontal, córtex cingulado, hipocampo, tálamo e corpo caloso, além de células nervosas e imunológicas, como neurônios, oligodendrócitos, astrócitos, micróglia, linfócitos e células NK ( BRESSAN; PILOWSKY, 2003; NETO; BRESSAN, 2007; RAHMOUNE et al., 2012; GUEST et al., 2012; SCHMITT et al., 2012; NASCIMENTO; MARTINS-DE-SOUZA, 2014; DAVALIEVA; KOSTOVSKA; DWORK, 2016; VIDAL; PACHECO, 2019; FERRER et al., 2020; LIU et al., 2020; MURPHY et al., 2020). Esses achados podem explicar as alterações fisiológicas e estruturais, além dos sintomas apresentados nos quadros iniciais e crônicos da esquizofrenia.

Dados epidemiológicos apontam que a doença atinge 1% da população mundial. Quando avaliados os fatores ambientais e de gênero, é observada maior prevalência em homens moradores da zona urbana. A diferença da prevalência e da progressão mais branda da esquizofrenia em mulheres pode ser resultante da influência hormonal, visto que estrogênios influenciam na síntese e captação de neurotransmissores, como serotonina, dopamina e norepinefrina, influenciando na cognição, desenvolvimento e proteção neural da mulher (CLÍNICA PSIQUIÁTRICA, 2011; MUESER; MCGURK, 2004). Em relação ao fator urbano da esquizofrenia, a maior prevalência da doença nas zonas urbanas pode ser resultado da influência socioambiental destes meios, visto que o estresse, a má alimentação e exposição a agentes infecciosos é maior nas cidades do que em zonas rurais (BARROS, 2013).

A Revolução Farmacêutica da Psiquiatria do século XX trouxe ao mercado

mundial diferentes fármacos capazes de melhorar significativamente os sintomas nos pacientes portadores de psicoses. Esses fármacos, denominados antipsicóticos, auxiliam na manutenção desses circuitos nervosos alterados, agindo como agonistas e antagonistas de receptores dopaminérgicos, serotoninérgicos, gabaérgicos e glutamatérgicos (SILVA, 2006).

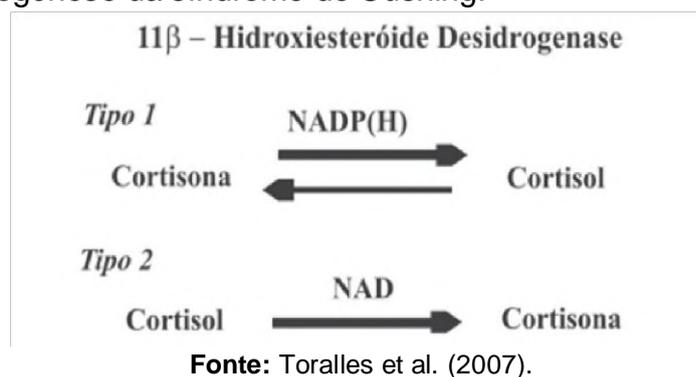
### 3.1 Alterações do eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal (HPA) na esquizofrenia

Os transtornos neuropsiquiátricos são condições de herança complexa, resultantes da interação de diversos fatores, incluindo fatores genéticos, neurobiológicos, culturais e experiências de vida (LIN; HUANG, 2017). Dessa forma, estímulos recebidos durante toda a vida, inclusive durante o período gestacional, podem influenciar o desenvolvimento neurológico.

Estudos mostram que a exposição pré-natal ao estresse materno aumenta o risco de problemas comportamentais e de saúde mental mais tarde na vida (VAN DER BERG, et al., 2020). A elevação excessiva dos níveis de cortisol durante o período gestacional pode modificar permanentemente o crescimento do feto. Isso porque o cortisol desregula a secreção de outros hormônios (SECKL; HOLMES, 2007; CHARIL et al., 2010).

Em casos de estresse gestacional crônico, a expressão de 11 $\beta$ -hidroxiesteroide desidrogenase-2 (11 $\beta$ -HSD2), responsável pela conversão do cortisol e cortisona, se encontra diminuída, deixando o feto mais suscetível à exposição de hormônios, principalmente do cortisol, como mostra a figura 1 (GUEST et al., 2012).

**Figura 1** – A ação das isoenzimas 11 $\beta$ -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 1 e tipo 2 na patogênese da síndrome de Cushing.



Desta forma, com a menor expressão de  $11\beta$ -HSD2, a forma ativa de cortisol leva ao constante estímulo receptores de mineralocorticóide. Esse estímulo constante pode alterar a síntese de outros hormônios, levando a disfunção e lesão do tecido fetal.

Kastin e Akerstrom (2002) também relataram que o estresse do eixo HPA induz o aumento da síntese de corticotrofina, podendo levar às alterações macroscópicas e microscópicas no hipocampo.

O receptor glicocorticóide (GR) é um importante mediador da resposta adaptativa ao estresse e ao aumento na circulação de cortisol (LIU et al., 2020). Sinclair et al (2012) relataram uma reduzida expressão de RNAm do éxon 1B (GR-1B), regulada pela metilação do promotor do receptor glicocorticóide, no córtex pré-frontal dorsolateral em casos de esquizofrenia, sendo os níveis de RNAm 1B responsáveis por 48% das variações nos níveis de RNAm de receptores glicocorticóide na região.

A enolase neurônio-específica (NSE) é uma enzima citoplasmática localizada em neurônios e tecidos neuroendócrinos e apresenta-se como marcador de dano cerebral com necrose neuronal (LIU et al., 2020). Medina-Hernández et al. (2007) observaram presença elevada da enzima no córtex sensorial e temporal, além de concentrações séricas elevadas em pacientes em quadros resistentes ao tratamento.

Liu et al. (2020) observaram expressão anormal de RNAm para NSE em pacientes crônicos, do GR em pacientes iniciais e crônicos e do GR-1B em pacientes em estado crônico. Além disso, os níveis séricos de cortisol se apresentaram significativamente menores do que os níveis avaliados nos demais grupos de indivíduos, sugerindo que a desregulação da expressão do receptor GR e de NSE podem variar de acordo com o estado da doença.

Em resposta a agentes estressores, neurônios do núcleo paraventricular do hipotálamo secretam hormônio liberador de corticotrofina (CRH) que, com a ativação dos receptores CRHR1, sinalizam a liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela hipófise. Esse hormônio também regula a ativação de vias serotoninérgicas, dopaminérgicas e glutamatérgicas (DEUSSING; WURST, 2005).

A hipótese de que esses domínios cognitivos estão ligados à atividade do córtex pré-frontal é apoiada pelos estudos de Hupalo e Berridge (2016) e Ivy et al (2010),

que mostraram que as alterações das vias de sinalização dos receptores de CRH influenciam a estrutura e o funcionamento do hipocampo e do córtex pré-frontal em animais.

O gene *NR3C1* é responsável pela expressão dos GRs (SPIJKER; VAN ROSSUM, 2012). É estudado que variações nesse gene podem alterar a funcionalidade dos GRs, levando à hiperatividade do eixo HPA. Essas observações foram sustentadas pelo estudo de Taylor, Larson e Lauby (2014), que relatou que a reatividade do eixo em estados de estresse é influenciada por polimorfismos do gene *NR3C1* em indivíduos saudáveis.

A proteína 5 de ligação à FK506 (FKBP5) age como moduladora do loop de feedback negativo, influenciando a sensibilidade dos GRs (BINDER et al., 2008).

Já o gene *NR3C2* codifica os receptores de mineralocorticoide (MR). Polimorfismos comuns deste gene podem influenciar a afinidade do MR, modulando a atividade do eixo HPA (DERIJK et al., 2006).

### 3.2 Influências do sistema dopaminérgico

A dopamina (DA) é uma catecolamina cujos efeitos são dependentes de sua ligação com os receptores de dopamina (DR). Os subtipos de D1 (D1R, D5R) são receptores estimuladores, enquanto os D2 e os seus subtipos (D2R, D3R, D4R) agem como receptores inibitórios, que, dependendo de sua ação sobre a enzima adenilil ciclase, interfere na concentração intracelular do segundo mensageiro adenosina monofosfato cíclico (cAMP) (VIDAL; PACHECO, 2019; PENEDO et al., 2020).

A atual hipótese dopaminérgica envolve uma transmissão desregulada de dopamina em áreas mesolímbicas, estriado, hipocampo e transmissão hipoativa no córtex pré-frontal de pacientes esquizofrênicos (LODGE; GRACE, 2007; WEINSTEIN et al., 2017; DA SILVA ALVES et al., 2008).

Akil et al. (2000), a expressão de tirosina hidroxilase (TH), isto é, enzima responsável pela catalisação da primeira etapa da biossíntese de dopamina, apresentaram resultados heterogêneos em relação à desregulação do sistema dopaminérgico.

Li, Snyder e Vanover (2016) mostraram que a desregulação dos receptores D2

estavam ligados a sintomas positivos, como alucinações, delírios, distúrbios de pensamento, distúrbios de movimento e dificuldade de concentração. Klester et al (2001) relataram um aumento na expressão de D2R e D3R no corpo estriado do grupo de pacientes esquizofrênicos. Além disso, Ilani e seu grupo (2001) relataram aumento na expressão do receptor em linfócitos sanguíneos de pacientes com esquizofrenia.

Kwak et al. (2001) relataram que pacientes isentos de tratamento farmacológico apresentavam níveis transcricionais de D3R e D5R elevados em linfócitos, quando comparados com pacientes sob controle farmacológico.

Dois estudos informaram mudanças na composição reativa de células mononucleares do sangue periférico associadas à doença. Kelly et al (2018) relataram uma correlação inversa entre linfócitos T reguladores e o desenvolvimento de sintomas negativos em pacientes esquizofrênicos.

Já o estudo de Fernandez-Egea et al. (2016), por sua vez, relatou um aumento na quantidade de monócitos clássicos, linfócitos B virgens, células T de memória CXCR5+, e reduzidas porcentagens de células dendríticas, linfócitos T de memória CD4+ e Tregs HLA-DR+ no sangue de pacientes resistentes ao tratamento com clozapina, o que foi correlacionado com a redução da taxa de Tregs.

Desta forma, sugere-se atualmente um aumento da expressão de receptores dopaminérgicos de alta afinidade, como D3R e D5R, em linfócitos T de esquizofrênicos não tratados, e níveis aumentados de expressão do receptor de dopamina de baixa afinidade, como D2R, em pacientes tratados com medicamentos (PACHECO, 2017).

Por fim, a enzima catecol-o-metiltransferase (COMT), importante para o metabolismo da dopamina, contém um polimorfismo funcional envolvendo a substituição de valina (Val) por metionina (Met) (HOWES et al, 2016). O alelo Met foi associado à redução da atividade catabólica e redução da transmissão dopaminérgica estriatal (BILDER et al., 2004).

### **3.3 Influência do sistema glutamatérgico**

O sistema glutamatérgico é o maior sistema excitatório do SNC humano e está envolvido em funções cognitivas, como memória e aprendizagem. Os receptores glutamatérgicos tipo N-methyl-D-aspartato (NMDA) são neuro receptores ionotrópicos

essenciais para a plasticidade neuronal, incluindo os mecanismos de potenciação a longo prazo, sinaptogênese e excitotoxicidade (BRESSAN; PILOWSKY, 2003). Antagonistas de NMDA produzem não apenas psicose, mas também sintomas positivos e negativos, semelhantes aqueles observados na esquizofrenia, com duração de duas semanas (UNO; COYLE, 2019).

Um estudo de meta-análise indicou uma expressão reduzida de GluN1 (subunidade de receptores NDMA, associado ao receptor 1 metabotrópico de glutamato (mGluR1)) no córtex pré-frontal de tecidos post-mortem de esquizofrênicos. Os autores ainda realizaram uma revisão da expressão das subunidades de GluN2 (subunidade de receptores NDMA, associado ao receptor 2 metabotrópico de glutamato (mGluR2)) ( A, B e C), onde RNAm de GluN2C se apresentou significativamente reduzido no córtex pré-frontal (CATTS et al., 2016).

Alguns estudos também mostraram expressão reduzida de GluN1 e GluN2B no hipocampo esquerdo de esquizofrênicos (LAW; DEAKIN, 2001; GEDDES et al., 2014). Além disso, também foi relatado aumento da densidade pós-sináptica de receptores NMDA no córtex pré-frontal dorsolateral em esquizofrênicos (BANERJEE et al., 2015).

Os níveis de N-acetil aspartilglutamato (NAAG), um antagonista endógeno de NMDA e agonista de mGluR3, são regulados pela enzima glutamato despeptidase 2 (GCP-2) (BALU, 2016). A diminuição da atividade da GCP-2 e aumento dos níveis de NAAG no cérebro de esquizofrênicos sustenta a hipótese que a sinalização mediada por NAAG se encontra alterada nesses pacientes (BERGERON; COYLE, 2012).

### **3.4 Mecanismos genéticos e epigenéticos da esquizofrenia**

A reelina é uma proteína de matriz extracelular envolvida no desenvolvimento da conectividade neural cortical nos estágios embrionários e na plasticidade sináptica nos estágios pós-natais (NEGRON-OYARZO et al., 2016). Dong et al. (2008) demonstraram que a administração isolada de clozapina e sulpirida, ou em associação com o ácido valpróico, induz a regulação negativa de reelina e do promotor GAD67, crucial para a neurotransmissão de GABA, no córtex frontal de ratos, sugerindo que a metilação do promotor de reelina induzida pode ser atribuída a uma hiperestimulação da DNA desmetilase nuclear.

Em um estudo de imunoprecipitação de cromatina no hipocampo de roedores, Guan et al (2009) mostraram que a histona deacetilase 2 (HDAC2) se liga à região promotora de genes envolvidos na remodelação sináptica e formação de memória.

Por fim, Akbarian e Huang (2008) realizaram um estudo de imunoprecipitação de cromatina, que avaliaram o efeito crônico com ligantes de dopamina, serotonina e NMDA na fosforilação e acetilação da histona H3. Eles descobriram que os antagonistas de D2 induzem a fosforilação de H3.

### 3.5 Análises do transcriptoma e proteoma da esquizofrenia

Oligodendrócitos são células da glia que formam a bainha de mielina. A mielinização auxilia na propagação sináptica em neurônios, além de integrar a sincronia do cérebro, conectado a porções estruturais e funcionais (SCHMITT et al, 2012). Parlapani et al (2009) relataram uma redução da síntese de proteína básica da mielina (MPB) e glicoproteína da mielina e oligodendrócito (MOG) no cérebro.

A expressão de proteína periférica de mielina 22 (PMP22), glicoproteína associada à mielina (MAG), proteína de mielina e leucócito (MAL), transferrina (TF), claudina 1, claudina 5, proteína de proteolípídeo (PLP), gelsolina (GSN), plasmolipina (PLL, TM4SF11) e quaking (QKI), relacionados a divisão e diferenciação neural, crescimento e manutenção da mielina, também foram apresentadas alteradas (KATSEL; DAVIS; HAROUTUNIAN, 2005; DRACHEVA et al, 2006).

O metabolismo energético é essencial para a sobrevivência celular. Para que esse mecanismo funcione, as mitocôndrias, organelas que apresentam material genético próprio, sintetizam diferentes proteínas que catalisam os processos bioquímicos, como respiração celular e proteção contra radicais livres. Desta forma, a disfunção mitocondrial pode favorecer o processo apoptótico devido a incapacidade da célula de funcionar corretamente. Além disso, o acúmulo de agentes oxidativos favorece a disfunção e morte celular, podendo atingir moléculas importantes, como os ácidos nucleicos (SILVA; FERRARI, 2011).

Na esquizofrenia, a disfunção e morte de células nervosas, associadas ou não a migração de células inflamatórias, pode estar relacionada à disfunção mitocondrial, que leva ao comprometimento do metabolismo energético e acúmulo de radicais

livres. Estes, por fim, estão associados a peroxidação de lipídeos, desnaturação de proteínas e ativação de genes pró-inflamatórios (SILVA; FERRARI, 2011).

Seguindo essa lógica, estudos observaram expressão anormal de proteínas ligadas ao metabolismo energético e fosforilação oxidativa, como é o caso da desregulação de aldolase C (ALDOC), lactato desidrogenase B (LDHB), fosfoglicerato mutase (PGAM), fosfoglicerato quinase 1 (PGK1), piruvato quinase isozima (PKLR), gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), ATPases, superóxido dismutase (SOD), peroxirredoxinas (PRDX) e glutathiona S-transferases (GST) (ENGLISH et al., 2009; MARTINS-DE-SOUZA et al., 2010; HERBERTH et al., 2010; FÖCKING et al., 2014; MARTINS-DE-SOUZA et al., 2011; WESSELING et al., 2013). A relação entre proteínas e suas funções estão listadas na tabela 1.

**Tabela 1** - Proteínas ligadas ao metabolismo energético e fosforilação oxidativa e suas funções.

Proteína	Função	Referências
ALDOC	Glicólise	ENGLISH et al, 2009; FÖCKING et al, 2014; MARTINS-DE-SOUZA et al, 2010
LDHB	Antioxidante, transporte de íons	HERBERTH et al, 2010
PGAM	Glicólise	MARTINS-DE-SOUZA et al, 2011; WESSELING et al, 2013
PGK1	Glicólise, síntese de ATP	HERBERTH et al, 2010
PKLR	Glicólise, síntese de ATP	WESSELING et al, 2013
GAPDH	Glicólise, antioxidante, sinalização inflamatória	MARTINS-DE-SOUZA et al, 2011; WESSELING et al, 2013
ATPases	Síntese de ATP, transporte de íons	FÖCKING et al, 2014; MARTINS-DE-SOUZA et al, 2010
SOD	Antioxidante	FÖCKING et al, 2014; MARTINS-DE-SOUZA et al, 2011
PRDX	Antioxidante	ENGLISH et al, 2009; FÖCKING et al, 2014; MARTINS-DE-SOUZA et al, 2011; WESSELING et al, 2013
GST	Conjugação de glutathionas	MARTINS-DE-SOUZA et al, 2011

A desregulação dessas proteínas pode estar associada à transdução de sinal e à microarquitetura tecidual alteradas na esquizofrenia (NASCIMENTO; MARTINS-DE-SOUZA, 2014).

A expressão anormal de proteínas relacionadas à formação do citoesqueleto, como microtúbulos de tubulinas (TBA1B, TUBB2A), tropomiosinas (TPM1, TPM2, TPM3, TPM4), filamentos intermediários (GFAP, vimetina), dinamidina (DNM1) e microfilamentos de actina (ACTB, ACTG1) também foram observados (ZHAO et al., 2014; BAUMGARTNER et al., 2013; MARTINS-DE-SOUZA et al., 2010; ENGLISH et al., 2009).

Davalieva, Kostovska e Dwork (2016) publicaram um artigo de revisão compactando e comparando informações de outros estudos sobre as disfunções de circuitos e regiões do SNC, juntamente com a desregulação proteica presentes na esquizofrenia, que investigavam a relação da esquizofrenia com proteínas anormalmente expressas no córtex pré-frontal, córtex cingulado anterior, corpo caloso, neocórtex do lobo temporal, hipocampo e tálamo mediodorsal, sendo o primeiro o mais estudado.

Córtex cingulado anterior, neocórtex do lobo temporal, área de Wernicke e pólo esquerdo são regiões também estudadas devido a sua função sobre as emoções e comportamento, fala, linguagem e comunicação (DAVALIEVA; KOSTOVSKA; DWORK, 2016). Quando comparados com grupos controle, pacientes esquizofrênicos podem apresentar ativação anormal de córtex cingulado anterior durante alucinações e desenvolvimento de tarefas, seguido de anormalidades histológicas, além de alterações nas ações relacionadas a comunicação (BENES; VINCENT; TODTENKOPF, 2001; BOURAS et al., 2001; CHANA et al., 2003; SALGADO-PINEDA et al., 2003; QUINTANA et al., 2004).

Alterações estruturais no tálamo mediodorsal, corpo caloso e hipocampo também foram relatados, indicando perda de volume, má integridade de fibras axonais e menor densidade de axônios (HARRISON E EASTWOOD, 2001; MEHLER E WARNKE, 2002; INNOCENTI, ANSERMET e PARNAS, 2003).

Outra proteína de grande importância para os estudos do proteoma da esquizofrenia é o membro S100B da família de proteínas S100-calmodulina-troponina, presente em maior quantidade no citoplasma e no núcleo de astrócitos no SNC

(YELMO-CRUZ; MORERA-FUMERA; ABREU-GONZÁLEZ, 2012). Estudos observaram aumento da concentração de S100B no líquido cefalorraquidiano em pacientes com esquizofrenia aguda, podendo indicar início de processo apoptótico de astrócitos (ROTHERMUNDT et al., 2004; TOPOLOVEC-VRANIC et al., 2011).

A proteína em questão também age como citocina após sua secreção por linfócitos T CD8+ e células NK, sinalizando a ação de monócitos e células microgliais. Esta última libera outras citocinas e radicais livres, levando à necrose neuronal e diminuição da neurogênese (BIANCHI et al., 2007; BIANCHI et al., 2011; STEINER et al., 2011).

O receptor solúvel para produtos finais de glicação avançada (sRAGE) é o principal receptor para S100B, localizado em neurônios, glia, linfócitos T e células endoteliais (STEINER et al., 2009). Com isso, os autores observaram que, após seis semanas de tratamento acompanhado, houve um aumento na atividade de sRAGE, reduzindo os níveis de S100B no sangue de pacientes com esquizofrenia.

### 3.6 Fatores neuroimunes

Há cada vez mais evidências demonstrando que a desregulação de mecanismos imunológicos também está relacionada com o desenvolvimento da esquizofrenia. Diversos estudos indicam que pacientes esquizofrênicos apresentam alterações qualitativas e quantitativas não só de células imunológicas, mas também de fatores humorais relacionados à sinalização do processo inflamatório (RAHMOUNE et al., 2012; MURPHY et al., 2020; ARABSKA et al., 2021).

Dentre os fatores estudados, se apresentam interleucinas, fator nuclear kappa b (NFκB), fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) e interferon γ (IFN-γ). Também é sugerido que a reatividade de células mononucleadas do sangue periférico pode alterar o curso da doença (RAHMOUNE et al., 2012; MURPHY et al., 2020; ARABSKA et al., 2021).

Arabska et al. (2021) observaram que pacientes com esquizofrenia apresentavam níveis mais altos de CXCL8, uma interleucina expressa em neurônios, astrócitos e micróglia, e níveis reduzidos de fractalquina, uma quimiocina neural que se liga a receptores presentes na micróglia, contribuindo em vários processos

sinápticos.

Murphy et al. (2020), por sua vez, verificaram que pacientes com esquizofrenia também apresentavam alterações moleculares e teciduais relacionadas à expressão de proteína 2 de ligação e amplificação do vírus da imunodeficiência do tipo 1 (HIVEP-2), uma proteína que suprime a transcrição de NFκB, e SERPINA3, uma proteína inibidora de secreção de serina proteases. Dentre os diversos achados, foi observada a regulação positiva da transcrição de citocinas no córtex pré-frontal dorsolateral e regulação negativa de marcadores celulares aumentados na substância branca.

Também foi avaliado que inflamações exacerbadas apresentavam níveis menores de RNAm de HIVEP-2 quando comparado com quadros de inflamação mais leves, embora não houvesse diferença na taxa de expressão em maiores e menores quadros inflamatórios corticais. Além disso, os autores também observaram que a transcrição de SERPINA3, regulada positivamente na massa cinzenta do córtex pré-frontal dorsolateral, aumentava de acordo com o nível do quadro inflamatório (MURPHY et al., 2020).

Proteínas inflamatórias, como alfa-defensinas (DEFA1, DEFA2, DEFA3, DEFA4), fator inibidor de migração de macrófagos (MIF), IL-1ra, IL-8, IL-10, IL-15, IL-16, IL-17 e IL-18, assim como o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), proteína relacionada a desenvolvimento e diferenciação celular, também apresentaram expressão disfuncional. Além desses achados, foi sugerido que o tratamento com inibidores de ciclooxigenase 2 (COX-2) pode diminuir o quadro inflamatório de pacientes com esquizofrenia (SÖDERLUND et al, 2009; DOMENICI et al., 2010; SCHWARZ et al., 2012; SCHWARZ et al., 2012; SCHWARZ et al., 2012; MÜLLER, 2013; IAVARONE et al., 2014; DE WITTE et al., 2014). A tabela abaixo apresenta as proteínas mencionadas e suas respectivas funções.

**Tabela 2** - Proteínas ligadas à sinalização inflamatória e suas funções.

Proteína	Função	Fonte
DEFA	Controla a resposta imunológica contra bactérias, vírus, fungos e parasitas	IAVARONE et al, 2014; STEINER et al, 2014
MIF	Regula função de macrófagos e	SÖDERLUND et al, 2009; SCHWARZ et al, 2012

	controla a atividade anti-inflamatória dos glicocorticóides	
IL	Proteínas que atuam sobre diferentes mecanismos inflamatórios	DE WITTE et al 2014; DOMENICI et al, 2010; SÖDERLUND et al, 2009; SCHWARZ et al, 2012
COX	Catalisa a primeira etapa na síntese de prostanoídes. Apresenta diversas subunidades, como é o caso da COX-2	MÜLLER, 2013
BDNF	Neurotrofina associada a diversos mecanismos do desenvolvimento nervoso	DOMENICI et al, 2010;

Desta forma, essas informações defendem evidências sobre a disfunção do sistema imunológico, juntamente com a presença de processo neuroinflamatório presente na esquizofrenia (NASCIMENTO; MARTINS-DE-SOUZA, 2014).

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A grande quantidade de sintomas da esquizofrenia é decorrente do processo neurodegenerativo marcado pela disfunção e morte de neurônios e células da glia do sistema nervoso central, resultante da desregulação de receptores glutamatérgicos e dopaminérgicos, disfunção mitocondrial e processo inflamatório.

Com a revisão dos artigos utilizados para esse trabalho, foi possível observar que a expressão alterada de proteínas ligadas a orientação axônica, formação de mielina, metabolismo energético, maturação de receptores e sinalizadores de processo inflamatório, podem estar relacionados com a disfunção celular e alteração da microarquitetura tecidual presente no cérebro de pacientes.

Essa desregulação da expressão proteica pode ser resultante não só de fatores genéticos, como presença de polimorfismos, mas também de influência epigenética, como fosforilação ou acetilação de histonas.

Além disso, como na maioria dos transtornos psiquiátricos, o desenvolvimento da esquizofrenia pode ser influenciado por uma hiperatividade do eixo HPA no período gestacional, e por complicações obstétricas, como infecções durante a gestação,

levando à passagem de sinalizadores inflamatórios pela placenta, favorecendo a infiltração de células imunológicas e lesão do sistema nervoso em formação.

Especialistas podem utilizar essas informações para desenvolver melhores métodos de diagnóstico e elaborar fármacos mais efetivos, visando uma qualidade de vida melhor para os pacientes.

## REFERÊNCIAS

ABI-DARGHAM, A, et al. Increased baseline occupancy of D2 receptors by dopamine in schizophrenia. **Proc Natl Acad Sci**. v. 97, n. 14, p. 8104-8109, jul. 2000.

AKBARIAN, Schahram; HUANG, Hsien-Sung. Epigenetic Regulation in Human Brain—Focus on Histone Lysine Methylation. **Biological Psychiatry**. v. 65, n. 3, p.198-203, fev. 2009.

AKIL, M. et al. Decreased density of tyrosine hydroxylase-immunoreactive axons in the entorhinal cortex of schizophrenic subjects. **Biological Psychiatry**. v. 47, n. 5, p.361-370, mar. 2000.

AL-NUAIMI, Saleem; CHAVES, Cristiano; HALLAK, Jaime Eduardo Cecílio; BAKER, Glen B; DURSUN, Serdar. Novas perspectivas e diretrizes na terapêutica da esquizofrenia: avanços relacionados com os sistemas não-dopaminérgicos, **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 32, n. 4, p. 336-338, dez. 2010.

ALVES, Fabiana da Silva et al. The revised dopamine hypothesis of schizophrenia: evidence from pharmacological MRI studies with atypical antipsychotic medication. **Psychopharmacol Bull**. v. 41, n. 1, p. 121-132, 2008.

ARABSKA, Jasmina; WYSOKINSKI, Adam; BRZEZINSKA-BLASZCYK, Ewa; KOZLOWSKA, Elzbieta. Serum Levels and in vitro CX3CL1 (Fractalkine), CXCL8, and IL-10 Synthesis in Phytohemagglutinin-Stimulated and Non-stimulated Peripheral Blood Mononuclear Cells in Subjects With Schizophrenia. **Frontiers Psychiatry**, v. 13, n. 845136, p. 1-11, jun. 2022.

AWAM Al. K. et al. Multiplatform metabolome and proteome profiling identifies serum metabolite and protein signatures as prospective biomarkers for schizophrenia. **Journal of Neurotransmission**. v. 122, n. 1, p. 111-122, mai. 2014.

BANERJEE A. et al. Src kinase as a mediator of convergent molecular abnormalities leading to NMDAR hypoactivity in schizophrenia. **Molecular Psychiatry**. v. 20, p. 1091-1100, out. 2014.

BARROS, Rafael Fernandes. **Fatores sociais e esquizofrenia: investigando possíveis associações**. 2013. 63 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina de Botucatu, 2013.

BAUMGARTNER R. et al. Identification and validation of platelet low biological variation proteins, superior to GAPDH, actin and tubulin, as tools in clinical proteomics. **Journal of Proteomics**. v. 94, p. 540-551, dez. 2013.

BEASLEY, C. L. et al. Proteomic analysis of the anterior cingulate cortex in the major psychiatric disorders: evidence for disease-associated changes. **Proteomics**. v.6, n. 11, p.3414-3425, jun. 2006.

BENES, F. M.; VINCENT, S. L.; TODTENKOPF, M. The density of pyramidal and nonpyramidal neurons in anterior cingulate cortex of schizophrenic and bipolar subjects. **Biological Psychiatry**. v. 50, n. 6, p.395-406, set. 2001.

BERGERON, R; COYLE, J. NAAG, NMDA receptor and psychosis. **Current medicinal chemistry**, v. 19, n. 9, p. 1360-1364, fev. 2012.

BIANCHI, R. et al S100B binding to RAGE in microglia stimulates COX-2 expression. **J. Leukoc. Biol.** v. 81, n. 1, p. 108-118, out. 2016.

BIANCHI, R. et al. S100B protein stimulates microglia migration via RAGE dependent up-regulation of chemokine expression and release. **J. Biol. Chem.** v. 286, n. 9, p. 7214-7226, mar. 2011.

BILDER, Robert M et al. The catechol O-methyltransferase polymorphism: Relations to the tonic-phasic dopamine hypothesis and neuropsychiatric phenotypes. **Neuropsychopharmacology**., v. 29, n.11, p. 1943-1961, nov. 2004.

BINDER, Elisabeth B et al. Association of FKBP5 polymorphisms and childhood abuse with risk of posttraumatic stress disorder symptoms in adults. **JAMA**. v. 299, n. 11, p. 1291-1305, mar. 2008.

BOURAS, Constantin et al. Anterior cingulate cortex pathology in schizophrenia and bipolar disorder. **Acta Neuropathol.** v. 102, p. 373-379, out. 2001.

BRESSAN, Rodrigo A; PILOWSKY, Lyn S. Hipótese glutamatérgica da esquizofrenia. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. v. 25, n. 3, p. 177-183, out. 2003.

CAHOY, John D et al. A transcriptome database for astrocytes, neurons, and oligodendrocytes: a new resource for understanding brain development and function. **J Neurosci**. v. 28, n. 1, p. 264-278, jan. 2008.

CATTS, Vibeke S et al. A quantitative review of the postmortem evidence for decreased cortical N-methyl-D-aspartate receptor expression levels in schizophrenia: How can we link molecular abnormalities to mismatch negativity deficits?. **Biological Psychology**. v. 116, p. 57-67, abr. 2016.

CHANA, G. et al. Two-dimensional assessment of cytoarchitecture in the anterior cingulate cortex in major depressive disorder, bipolar disorder, and schizophrenia: evidence for decreased neuronal somal size and increased neuronal density. **Biological Psychiatry**. v. 53, p. 1086-1098, jun. 2003.

CHARIL, Arnaud et al. Prenatal stress and brain development. **Brain Research Reviews**. v. 65, n. 1, p. 56-79, out. 2010.

DAVALIEVA, Katarina; KOSTOVSKA, Ivana Maleva; DWORK, Andrew J. Proteomics Research in Schizophrenia. **Frontiers in Cellular Neuroscience**. v. 10, n.18, fev. 2016.

DERIJK, Roel H et al. A common polymorphism in the mineralocorticoid receptor modulates stress responsiveness. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v. 91, n. 12, p. 5083–5089, dez. 2006.

DEUSSING, Jan M; WURST, Wolfgang. Dissecting the genetic effect of the CRH system on anxiety and stress-related behaviour. **Comptes Rendus Biologies**. v. 328, n. 2, p. 199-212, fev. 2002.

DE WITTE, Lot de et al. Cytokine alterations in first-episode schizophrenia patients before and after antipsychotic treatment. **Schizophrenia Research**. v. 154, n. 1-3, p. 23-29, abr. 2014.

DOMENICI, Enrico et al. Plasma protein biomarkers for depression and schizophrenia by multi analyte profiling of case-control collections. **PLoS ONE**. v. 5, n. 2, fev. 2010.

DONG, E et al. Clozapine and sulpiride but not haloperidol or olanzapine activate brain DNA demethylation. **Proc Natl Acad Sci**. v. 105, n. 36, p. 13614-13619, set. 2008.

DRACHEVA, Stella et al. Myelin-associated mRNA and protein expression deficits in the anterior cingulate cortex and hippocampus in elderly schizophrenia patients. **Neurobiology of Disease**. v. 21, n. 3, p. 531-540, mar. 2006.

ENGLISH, Jane A et al. 2-D DIGE analysis implicates cytoskeletal abnormalities in psychiatric disease. **Proteomics**. v. 9, n. 12, p. 3368-3382, jun. 2009.

**Esquizofrenia**. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas. Portaria SAS/MS nº 364. 9 de abril de 2013.

FERNANDEZ-EGEA, Emilio et al. Peripheral Immune Cell Populations Associated with Cognitive Deficits and Negative Symptoms of Treatment-Resistant Schizophrenia. **PLoS ONE**. v. 11, n. 5, mai. 2016.

FERRER, Alex et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis-related genes and cognition in major mood disorders and schizophrenia: a systematic review. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**. v. 101, jul. 2020.

FÖCKING, Melanie et al. Common Proteomic Changes in the Hippocampus in Schizophrenia and Bipolar Disorder and Particular Evidence for Involvement of Cornu Ammonis regions 2 and 3. **Arch Gen Psychiatry**. v. 68, n. 5, p. 477-488, maio de 2011.

GEDDES, Amy E; HUANG, Xu-Feng; NEWELL, Kelly A. GluN2B protein deficits in the left, but not the right, hippocampus in schizophrenia. **BMC Psychiatry**. v. 14, n. 274, out. 2014.

GUAN, Ji-Song et al. HDAC2 negatively regulates memory formation and synaptic plasticity. **Nature**. v. 459, n. 7243, p. 55-60. maio de 2009.

GUEST, Francesca L et al. Os efeitos do estresse na função do eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal em indivíduos com esquizofrenia. **Archives of Clinical Psychiatry**. São Paulo, v. 40, n. 1, p. 20-27, dez. 2012.

HARRISON, P J; EASTWOOD, S L. Neuropathological studies of synaptic connectivity in the hippocampal formation in schizophrenia. **Hippocampus**. v. 11, n. 5, p. 508-519, nov. 2001.

HERBERTH M et al. Impaired glycolytic response in peripheral blood mononuclear cells of first-onset antipsychotic-naive schizophrenia patients. **Mol Psychiatry**. v. 16, n. 8, p. 848-859, ago. 2011.

HOWES, Oliver D et al. The Role of Genes, Stress, and Dopamine in the Development of Schizophrenia. **Biological Psychology**. v. 81, n. 1, p. 9-20. jan. 2017.

HUPALO,S; BERRIDGE, C W. Working memory impairing actions of Corticotropin-Releasing Factor (CRF) neurotransmission in the prefrontal cortex. **Neuropsychopharmacol**. v. 41, p. 2733-2740, jun 2016.

IAVARONE, Federica et al. Characterization of salivary proteins of schizophrenic and bipolar disorder patients by top-down proteomics. **Journal of Proteomics**. v 103, p. 15-22, maio de 2014.

IBI, Daisuke; GONZÁLEZ-MAESO, Javier. Epigenetic signaling in Schizophrenia. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**. v. 118, n. 1-2, p. 1-7, jul. 2015.

INNOCENTI, G M; ANSERMET, F; PARNAS, J. Schizophrenia, neurodevelopment and corpus callosum. **Molecular Psychiatry**. 8, n. 3, p. 261-274, mar. 2003.

IVY, Autumn S et al. Hippocampal dysfunction and cognitive impairments provoked by chronic early-life stress involve excessive activation of CR. **The Journal of Neuroscience**. v. 30, n. 39, p. 13005-13015, set 2010.

KATSEL, Pavel; DAVIS, Kenneth L; HAROUTUNIAN, Vahram. Variations in myelin and oligodendrocyte-related gene expression across multiple brain regions in schizophrenia: a gene ontology study. **Schizophrenia Research**. v. 79, n. 2-3, p. 157-173, nov. 2005.

KELLY, Deanna L et al. Increased circulating regulatory T cells in medicated people with schizophrenia. **Psychiatry Research**. vol. 269, p. 517-523, nov. 2018.

KESTLER, L P; WALKER, E; and VEGA, E M. Dopamine receptors in the brains of schizophrenia patients: a meta-analysis of the findings. **Behavioural Pharmacology**. vol. 12, n. 5, p. 355-371, set. 2001.

KWAK, Y T et al. Change of dopamine receptor mRNA expression in lymphocytes of schizophrenic patients. **BCM Medical Genetics**. v. 2, n. 3, mar. 2001.

LAW, A J; DEAKIN, J F. Asymmetrical reductions of hippocampal NMDAR1 glutamate receptor mRNA in the psychoses. **Neuroreport**. v. 12, n. 13, p. 2971-4, set. 2001.

LI, Peng; SNYDER, Gretchen L; VANOVER, Kimberly. Dopamine Targeting Drugs for the Treatment of Schizophrenia: Past, Present and Future. **Current Topics In Medical Chemistry**. v. 16, n. 29, p. 3385-3403, dez. 2016.

LIU, Yong et al. Altered Expression of Glucocorticoid Receptor and Neuron-Specific Enolase mRNA in Peripheral Blood in First-Episode Schizophrenia and Chronic Schizophrenia. **Frontiers in Psychiatry**. v. 11, n. 760, ago. 2020.

LODGE, Daniel J; GRACE, Anthony A. Aberrant hippocampal activity underlies the dopamine dysregulation in an animal model of schizophrenia. **The Journal of Neuroscience**. v. 27, n. 42, p. 11424-11430, out. 2007.

MARDER, Stephen R; CANNON, Tyrone D. Schizophrenia. **NEJM**. v. 381, p. 1753-1761, out. 2019.

MARTINS-DE-SOUZA, Daniel et al. Proteome analysis of schizophrenia brain tissue. **The World Journal of Biological Psychiatry**. v. 11, n. 2, p. 110-120, mar. 2010.

MARTINS-DE-SOUZA, Daniel et al. The role of energy metabolism dysfunction and oxidative stress in schizophrenia revealed by proteomics. **Antioxidants & Redox Signaling**. v. 15, n. 7, p. 2067-2079, out, 2011.

MEHLER, C; WARNKE, A. Structural brain abnormalities specific to childhood-onset schizophrenia identified by neuroimaging techniques. **Neural Transm**. v. 109, p. 219-234, fev 2002.

MCINNES, L Alison; LAURIAT, Tara L. RNA metabolism and dysmyelination in Schizophrenia. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**. v. 30, n. 4, p. 551-561, 2006.

MEDINA-HERNÁNDEZ, V et al. Increased lipid peroxidation and neuron specific enolase in treatment refractory schizophrenics. **Journal of Psychiatric Research**. v. 41, n. 8, p. 652-658, out. 2007.

MIGUEL, E. C.; GENTIL, V.; GATTAZ, W. F.. **Clínica Psiquiátrica. A visão do Departamento e do Instituto de Psiquiatria do HCFMUSP**. Barueri. Manole. 2011.

MUESER, Kim T; MCGURK, Susan R; Schizophrenia. **The Lancet**. Londres, v. 363, n. 9426, p. 2063-2072 jun 2004.

MÜLLER, Norbert The role of anti-inflammatory treatment in psychiatric disorders. **Psychiatria Danubina**. Zagreb, v. 25, n. 3, p. 292-298, 2013.

MURPHY, Caitlin E. et al. Regional, cellular and species difference of two key neuroinflammatory genes implicated in Schizophrenia. **Brain, Behavior, and Immunity**. v. 88, p. 826-839, ago 2020.

NASCIMENTO, Juliana M; MARTINS-DE-SOUZA, Daniel. **NPJ Schizophrenia**. v. 4, n. 14003, mar 2015.

NEGRÓN-OYARZO, Ignacio et al. Schizophrenia and reelin: a model based on prenatal stress to study epigenetics, brain development and behavior. **Biological Research**. v. 49, n. 16, mar 2016.

NESVADERANI, Maryam; MATSUMOTO, I; SIVAGNANASUNDARAM, Sinthuja. Anterior hippocampus in schizophrenia pathogenesis: molecular evidence from a proteome study. **The Australian and New Zealand Journal of Psychiatry**. v. 43, n. 4, p. 310-322, abr 2009.

NETO, Ary Gadelha de Alencar Araripe; BRESSAN, Rodrigo Affonseca; FILHO, Geraldo Busatto. Fisiopatologia da esquizofrenia: aspectos atuais. **Arch. Clin. Psychiatry**. São Paulo, v.34, n.2, p. 198-203, 2007.

PENEDO, M A et al. The role of dopamine receptors in lymphocytes and their changes in Schizophrenia. **Brain, Behavior, and Immunity**. v. 12, n. 100199, jan 2021.

PACHECO, Rodrigo. Targeting dopamine receptor D3 signalling in inflammation. **Oncotarget**. v. 8, n. 5, p. 7224-7225, jan 2017.

PARLAPANI, Eleni et al. Association between myelin basic protein expression and left entorhinal cortex pre-alpha cell layer disorganization in schizophrenia. **Brain Research**. v. 1301, p. 126-134, nov 2009.

PRABAKARAN, S et al. Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: evidence for compromised brain metabolism and oxidative stress. **Molecular Psychiatry**. v. 9, n.7, p. 684-697, jul 2004.

CORDIOLI, A. V.; GALLOIS, C. B.; ISOLAN, L. **Psicofármacos. Consulta rápida**. Porto Alegre. Artmed. 2015.

QUINTANA, J. et al. Anterior cingulate dysfunction during choice anticipation in schizophrenia. **Psychiatry Research: Neuroimaging**. v. 132, n. 2, p.117-130, dez 2004.

RAHMOUNE, Hassan et al. Explorando o componente inflamatório da esquizofrenia. **Archives of Clinical Psychiatry**. São Paulo, v. 40, n.1, dez 2012.

ROSENFELD Marina. et al. Perturbation in mitochondrial network dynamics and in

complex I dependent cellular respiration in schizophrenia. **Biological Psychiatry**. v. 69, n. 10, p. 980-988, mai 2011.

ROTHERMUNDT Matthias et al. S100B in brain damage and neurodegeneration. **Microscopy Research Technique**. v. 60, n. 6, p. 614-632, abr 2003.

SALGADO-PINEDA, Pilar et al. Sustained attention impairment correlates to gray matter decreases in first episode neuroleptic-naive schizophrenic patients. **Neuroimage**. v. 19, n. 2, p. 365-375, jun 2003.

SILVA, Wallison Junio Martins da; FERRARI, Carlos Kusano Bucalen. Metabolismo Mitocondrial, Radicais Livres e Envelhecimento. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**. Rio de Janeiro, v. 14, n. 3, ago 2012.

SCHMITT, Andrea et al. Estudos transcriptômicos no contexto da conectividade perturbada em esquizofrenia. **Arch. Clin. Psychiatry**. São Paulo, v. 40, n. 1, dez. 2012.

SCHWARZ, Emanuel et al. Identification of a biological signature for schizophrenia in serum. **Molecular Psychiatry**. v. 17, n. 5, p. 494-502, mai 2012.

SCHWARZ, Emanuel et al. Identification of a blood-based biological signature in subjects with psychiatric disorders prior to clinical manifestation. **The World Journal Biological Psychiatry**. v. 13, n 8, p, 627-632, dez 2012.

SCHWARZ, Emanuel et al. Identification of blood-based molecular signatures for prediction of response and relapse in schizophrenia patients. **Translational Psychiatry**. v. 2, n.2, fev 2012.

SECKL, Jonathan R, HOLMES Megan C. Mechanisms of disease: glucocorticoids, their placental metabolism and fetal 'programming' of adult pathophysiology. **Nat Clin Pract Endocrinol Metab**. v. 3, n. 6, p. 479-488, jun 2007.

SILVA, R C B. Esquizofrenia: uma revisão. **Psicologia USP**. v. 17, n. 4, p. 263-285, jan. 2001.

SINCLAIR, Duncan et al. Glucocorticoid receptor 1B and 1C mRNA transcript alterations in schizophrenia and bipolar disorder, and their possible regulation by GR gene variants. **PLoS One**. v. 7, n. 3, mar 2012.

SÖDERLUND J et al. Activation of brain interleukin-1 $\beta$  in schizophrenia. **Mol Psychiatry**. v. 14, p. 1069–1071, nov 2009.

SPIJKER, A T; VAN ROSSUN, E F C. Glucocorticoid sensitivity in mood disorders. **Neuroendocrinology**. v. 95, n. 3, p. 179-186, abr 2012.

STEINER, Johann et al. Human CD8(+) T cells and NK cells express and secrete S100B upon stimulation. **Brain, Behavior, and Immunity**. v. 25, n. 6, p. 1233-1241. ago 2011.

STEINER, Johann et al. S100B is downregulated in the nuclear proteome of schizophrenia corpus callosum. **European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience**. v. 264, n 4, p. 311-316, jun 2014.

STEINER, Johann et al. A new pathophysiological aspect of S100B in schizophrenia: Potential regulation of S100B by its scavenger soluble RAGE. **Biological Psychiatry**. vol 65, p 1107-1110, jun 2009.

TAYLOR, Markus K, LARSON, Gerald E, LAUBY, Melissa D H. Genetic variants in serotonin and corticosteroid systems modulate neuroendocrine and cardiovascular responses to intense stress. **Behavioural Brain Research**. v. 270, p. 1-7, ago 2014.

TOPOLOVEC-VRANIC Jane et al. The value of serum biomarkers in prediction models of outcome after mild traumatic brain injury. **Journal of Trauma and Acute Care Surgery**. v. 71, p. 478-486, nov 2011.

TORALLES, Maria Betânia Pereira et al. A ação das enzimas 11 $\beta$ -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 1 e tipo 2 na patogênese da Síndrome de Cushing. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**. v. 20, n. 2, p. 104-110, jan 2007.

UNO, Yota; COYLE, Joseph T. Glutamate hypothesis in schizophrenia. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**. v. 73, n. 5, p. 204-215, maio de 2019.

VAN DEN BERGH, Bea R.H et al. Prenatal developmental origins of behavior and mental health: The influence of maternal stress in pregnancy. **Neuroscience Biobehavioral Reviews**. v. 117, p. 26-64, out 2020.

VIDAL, Pia M; PACHECO, Rodrigo. The Cross-Talk Between the Dopaminergic and the Immune System Involved in Schizophrenia. **Frontiers in Pharmacology**. v. 11, p. 394, mar 2020.

WANG L et al. Expression profiling of fibroblasts identifies cell cycle abnormalities in schizophrenia. **Journal of Proteome Research**. v. 9, n. 1, p. 521-527, jan 2010.

WEINSTEIN, Jodi J et al. Pathway-Specific Dopamine Abnormalities in Schizophrenia. **Biol Psychiatry**. v. 81, n. 1, p. 31-42, jan 2017.

WESSLING, Hendrik et al. A combined metabonomic and proteomic approach identifies frontal cortex changes in a chronic phencyclidine rat model in relation to human schizophrenia brain pathology. **Neuropsychopharmacology**. v. 38, n. 12, p. 2532-2544, nov 2013.

YELMO-CRUZ, Silvia; MORERA-FUMERA, Armando L; ABREU-GONZÁLEZ, Pedro. S100B and Schizophrenia. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**. v. 67, n. 2, p. 67-75, fev. 2013.

ZHAO, Zhongming al. Transcriptome sequencing and genome-wide association analyses reveal lysosomal function and actin cytoskeleton remodeling in schizophrenia and bipolar disorder. **Mol Psychiatry**. v. 20, n. 5, p. 563-572, mai 2015.

# CONTEXTUALIZAÇÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS DA TERAPIA GÊNICA NO TRATAMENTO DO CÂNCER DE PULMÃO

## CONTEXTUALIZATION AND FUTURE PERSPECTIVES OF GENE THERAPY IN LUNG CANCER TREATMENT

Andresa Hiromi Sakai<sup>1</sup>  
Bruna Karina Banin Hirata<sup>2</sup>  
Andressa Megumi Niwa<sup>3</sup>

539

### RESUMO

O câncer de pulmão corresponde ao 3º tipo de neoplasia com maior incidência de casos e o primeiro com relação à taxa de mortalidade. Apesar da introdução das terapias convencionais, envolvendo a cirurgia, radioterapia e quimioterapia, a sobrevida desses pacientes é baixa devido ao diagnóstico tardio e agressividade desse carcinoma. Com a evolução científica, foram identificados diversos fatores que contribuem para o desenvolvimento de neoplasias, envolvendo a mutação de genes responsáveis pela proliferação celular, apoptose e reparo do DNA. A terapia gênica, mesmo que ainda em fase experimental, tem se mostrado promissora para o tratamento do câncer. Diversas técnicas foram desenvolvidas ao longo dos anos, sendo a utilização de técnicas tanto vetoriais quanto não vetoriais da terapia gênica, que tem mostrado resultados significativos em estudos experimentais. Essas diferentes técnicas, vêm demonstrando melhor prognóstico de acordo com o tipo de carcinoma pulmonar e estágio de comprometimento, auxiliando na redução de efeitos colaterais sistêmicos, melhora do prognóstico e aumento da sobrevida do paciente, bem como pode reduzir o risco de metástases e recidivas. Assim, diversos estudos translacionais começaram a ser realizados, que têm como alvo esses genes alterados, sendo a terapia gênica de alta relevância para um futuro tratamento para os pacientes acometidos por carcinomas, principalmente aqueles de alta mortalidade como o câncer de pulmão.

**Palavras-chaves:** carcinoma pulmonar; terapia gênica vetorial; terapia gênica não-vetorial.

### ABSTRACT

Lung cancer corresponds to the 3rd type of neoplasm with the highest incidence of cases and the first in terms of mortality rate. Despite the introduction of conventional

---

<sup>1</sup> Discente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UNIFIL). E-mail: sakaia.ah@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Londrina (UEL). Especialização em Biologia Aplicada à Saúde, UEL. Mestrado em Patologia Experimental, UEL. Doutorado em Patologia Experimental, UEL. Docente do Departamento de Ciências Básicas da Saúde na Universidade Estadual de Maringá (UEM). E-mail: bkbhirata2@uem.br

<sup>3</sup> Graduada em Biomedicina pela Universidade Estadual de Londrina (UEL). Mestrado em Genética e Biologia Molecular, UEL. Doutorado em Genética e Biologia Molecular, UEL. Docente de ensino superior no Centro Universitário Filadélfia (UNIFIL). E-mail: andressa.niwa@unifil.br

therapies, involving surgery, radiotherapy and chemotherapy the survival of these patients is low due to the late diagnosis and aggressiveness of this carcinoma. With scientific evolution, several factors that contribute to neoplasms development have been identified involving mutation of genes responsible for cell proliferation, apoptosis and DNA repair. Gene therapy even though still in an experimental phase has shown promise for cancer treatment. Several techniques have been developed over the years and the use of both vector and non-vector gene therapy techniques has shown significant results in experimental studies. These different techniques have shown a better prognosis according to of lung carcinoma type and involvement stage helping to reduce systemic side effects, improving prognosis and increasing patient survival, as well as reducing the risk of metastases and recurrences. Thus, several translational studies began to be carried out which target these altered genes with gene therapy being of high relevance for a future treatment for patients affected by carcinomas, especially those with high mortality such as lung cancer.

**Keywords:** lung carcinoma; vector gene therapy; non-vector gene therapy.

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma palavra de origem grega (karkinos) que significa caranguejo, provavelmente, descrita devido a sua capacidade de crescimento e infiltração que se assemelha a sua forma de fixação na areia ou na lama. Assim, o câncer é designado pelo descontrole da divisão celular, formando uma massa tumoral que pode ou não invadir outros tecidos ou estruturas adjacentes (INCA, 2011).

Segundo os últimos dados das dez maiores causas de morte no mundo pela OMS (Organização Mundial de Saúde), em 2019, o câncer de pulmão foi um dos únicos tipos de cânceres que entrou na lista, ocupando o sexto lugar junto com os de traqueia e brônquios (WHO, 2019). Sendo que, em 2020, o câncer de pulmão foi o segundo tipo de câncer com maior incidência no mundo e o primeiro nos índices de mortalidade (IARC, 2020).

Atualmente, a maioria dos pacientes acometidos por este carcinoma dispõem de uma abordagem terapêutica convencional, envolvendo cirurgia, radioterapia, quimioterapia e, em alguns casos, imunoterapia. Considerando que muitos pacientes são diagnosticados em estágios mais avançados da doença e podem ser refratários ao tratamento padrão, novas terapias têm emergido e sido estudadas (LEMJABBAR-ALAOUI *et al.*, 2015).

Entre elas, a terapia gênica trata-se de uma estratégia terapêutica promissora, particularmente no tratamento do câncer, já que possibilita a manipulação de genes

envolvidos na patogênese da doença. Dentro deste contexto, uma terapia gene-específica pode ajudar na redução de efeitos colaterais sistêmicos, melhora do prognóstico e aumento da sobrevida do paciente, bem como pode reduzir o risco de metástases e recidivas (GONÇALVES; PAIVA, 2017).

Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo descrever técnicas promissoras no campo da terapia gênica para o tratamento do câncer pulmonar, caracterizando a fisiopatologia, a implicação das mutações genéticas nesse tipo de câncer e contextualizar as diferentes estratégias de terapia gênica que podem ser aplicadas para o mesmo.

## **2 METODOLOGIA**

O presente estudo foi realizado por meio de uma pesquisa bibliográfica de caráter exploratório e qualitativo contendo dados, conceitos e técnicas retirados de artigos científicos, teses e dissertações sobre o tema em bibliotecas, sites e plataformas online como o SciELO, PubMed e o Google Acadêmico. A fim de obter um trabalho com informações atualizadas, foi dada preferência para trabalhos publicados nos últimos dez anos (2012 a 2022). As buscas ocorreram pela seleção das palavras-chave e pela restrição do período das publicações. Em seguida, foram realizadas as leituras, fichamentos e resenhas dos artigos, os quais serviram de embasamento teórico para a construção do trabalho final.

## **3 CARCINOMA PULMONAR**

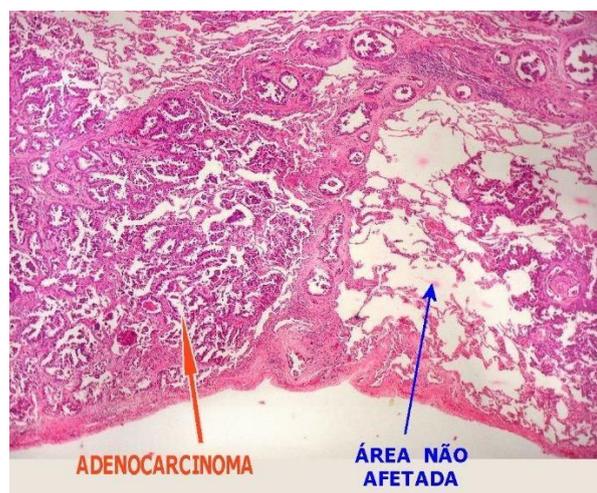
O carcinoma pulmonar é dividido em dois grandes grupos, o carcinoma de células não pequenas (CNPC) correspondendo a, aproximadamente, 80% dos casos e subdivido em vários outros tipos de carcinomas, sendo os principais o adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas (CCE) e carcinoma de células grandes (CCG). O segundo agrupamento corresponde ao carcinoma de pequenas células (CPC), responsável por 20% dos pacientes acometidos por esse tipo de câncer, que apresenta característica neuroendócrina (ZHENG, 2016).

Correspondendo ao tipo de câncer de pulmão mais comum, o adenocarcinoma é definido como uma neoplasia maligna epitelial com diferenciação glandular ou a produção de mucina, glicoproteína constituinte da mucosa (Figura 1). As suas

características são descritas, frequentemente, pela formação de uma massa periférica com a presença de uma fibrose central e pregas pleurais. Além disso, pode ser observada, de forma macroscópica, uma diversidade de alterações, englobando a visualização de uma massa localizada de forma central, consolidação lobar com aspecto difuso, distribuição multinodular e bilateral, e espessamento da pleura (MUKHOPADHYAY; KATZENSTEIN, 2011).

Sendo responsável por 20% dos casos de câncer de pulmão, o Carcinoma de Células Escamosas (CCE) tem como a sua principal causa o tabagismo, conseqüentemente, seu índice tem diminuído nas últimas décadas, devido às mudanças de hábitos e conscientização do uso de cigarros (LEWIS *et al.*, 2014).

**Figura 1** – Histologia de um tecido pulmonar normal e com adenocarcinoma pulmonar.



Fonte: UNICAMP (2016).

O aparecimento do CCE é, geralmente, na porção central do pulmão, adjacente as principais vias aéreas, podendo formar cavidades capazes de atingir um tamanho extenso. Na visualização microscópica, é possível observar regiões queratinizadas, presença de junções intercelulares e um aspecto sólido com crescimento anormal das células (FIGURA 2). Além disso, as células tumorais podem possuir núcleos hiper cromáticos, nucléolos dificilmente visualizados e moderado a abundante citoplasma. Neste carcinoma, podem ser também observadas nas regiões tumorais, pérolas de queratina, formadas devido ao agrupamento de queratina nas células escamosas (BRAMBILLA *et al.*, 2014).

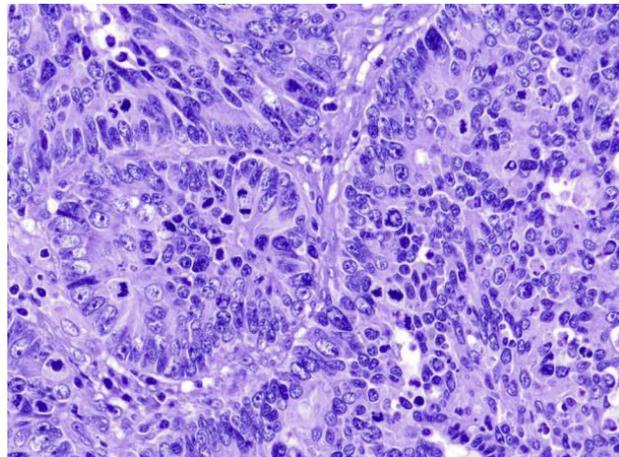
**Figura 2** – Histologia pulmonar normal associada ao CCE.



Fonte: UNICAMP (2016).

O CCG, usualmente, possui uma localização periférica, com aspecto volumoso e necrótico. As células tumorais são grandes e cuboides, com atipias nucleares (FIGURA 3). Esse carcinoma corresponde menos de 3% de todos os cânceres de pulmão (TRAVIS *et al.*, 2012).

**Figura 3** – CCG com pleomorfismos e grande taxa mitótica.



Fonte: Toro *et al.* (2015).

Conhecido pela sua alta taxa de malignidade, por ser altamente agressivo com grandes chances de metástases, o CPC está diretamente ligado ao histórico de tabagismo, representando cerca de 20% de todos os casos de cânceres de pulmão (PLANCHARD; PÉCHOUX, 2011).

Esse carcinoma é encontrado, principalmente, centralizado nas principais vias aéreas do pulmão. As células tumorais são pequenas, quando comparadas aos outros tipos de cânceres de pulmão, com cromatina finamente granular e nucléolos ausentes. Apresentam também um citoplasma escasso e as células quase não possuem delimitações (FIGURA 4). Além disso, apresentam uma alta taxa mitótica e apoptótica e, constantemente, presença de uma extensa necrose tumoral (ZAMECNIK; KODET, 2001).

**Figura 4** – Histologia do CPC demonstrando algumas atipias celulares características.



Fonte: UNICAMP (2016).

#### 4 FISIOPATOLOGIA DO CÂNCER DE PULMÃO

As causas que resultam nas mutações gênicas para a formação do carcinoma pulmonar são multifatoriais, sendo a principal o hábito de fumar, além também da exposição à radiação, à poluição ambiental, aos riscos ocupacionais (asbestos, amianto, arsênio, cromo, níquel, radônio, etc.), dietas não balanceadas – principalmente aquelas em que há presença de substâncias carcinogênicas e pouco consumo de frutas e vegetais – e, suscetibilidade hereditária (MAO et al., 2016).

Porém, mesmo que o uso de tabaco seja o principal determinante para a evolução na maioria dos casos de câncer de pulmão, sabe-se que são necessários diversos fatores genéticos somados aos agentes externos para a sua manifestação (MAO et al., 2016).

Quando as células normais são expostas de maneira contínua aos agentes

cancerígenos, ocorre a ativação dos proto-oncogenes – que são expressos nas células normais – em oncogenes, ou seja, transcorrem mutações genéticas que levam a superexpressão desses genes especiais responsáveis pelo desenvolvimento do câncer (DEVITA JUNIOR; LAWRENCE; ROSENBERG, 2018).

Assim, as alterações genéticas encontradas no carcinoma pulmonar envolvem diversos genes (TABELA 1), os mais frequentes são *TP53*, *KRAS*, *STK11*, *EGFR*, *BRAF*, entre outros, porém sabe-se que apenas uma pequena parte desses genes envolvidos tenha sido estudada (PAO; GIRARD, 2011; LA FLEUR et al., 2019).

Em pacientes não fumantes, o câncer de pulmão mais prevalente é o adenocarcinoma e, estudos moleculares, revelaram uma diferença significativa no genoma de pacientes não fumantes em relação aos pacientes fumantes. Foram observadas que mutações nos genes *TP53*, *KRAS* e *STK11* estão, em sua maioria, presentes em pacientes com carcinoma pulmonar com hábitos de fumar, enquanto mutações nos genes *EGFR* e *HER2*, e fusão *ALK-ELM4* são comuns em pacientes com carcinoma pulmonar não fumantes (RUDIN et al., 2009). O entendimento dos diferentes perfis genéticos nesse carcinoma é importante para a compreensão da carcinogênese, além de auxiliar na determinação de estratégias terapêuticas melhores para cada paciente (SCHABATH; COTE, 2019).

**Tabela 1** – Principais genes envolvidos nos diversos tipos de carcinoma pulmonar.

Gene	Cromossomo	Proteína	Função	Tipo de mutação	Referências
<b>BRAF</b>	7q34	RAF	Controle da proliferação e diferenciação celular; e apoptose.	Mutação somática do tipo <i>missense</i>	Cardarella <i>et al.</i> (2013)
<b>EGFR</b>	7p11.2	Fator de crescimento epidermal (EGFR)	Regula as vias de sinalização da proliferação celular.	Amplificação, mutações pontuais e deleção	Paik <i>et al.</i> (2012)
<b>EML4-ALK</b>	2	Proteína tipo 4 associada a microtúbulos da equinoderme (EML4) -Quinase de linfoma anaplásico (ALK)	Aumento do crescimento, proliferação e sobrevivência celular.	Fusão dos dois genes	Katayama <i>et al.</i> (2012)
<b>HER-2</b>	17q21	Receptor do fator de crescimento epidérmico humano tipo 2 (HER-2)	Controle do crescimento e diferenciação celular.	Inserções ou duplicações	Mazières <i>et al.</i> (2016).
<b>KRAS</b>	12p12	<i>Rat Sarcoma Virus</i> (RAS)	Controle do crescimento, proliferação e migração celular.	Transversão	Westcott e To (2013)
<b>MET</b>	7q31.2	Receptor do fator de crescimento de hepatócitos (HGFR)	Crescimento e migração celular.	Amplificação, mutações pontuais, inserções ou deleções	Liang e Wang (2020)
<b>RET</b>	10p11.22-q11.21	RET protooncogene	Processos de crescimento e diferenciação celular.	Fusão com o gene KIF5B, devido a inversão pericêntrica	Ju <i>et al.</i> (2011)
<b>ROS-1</b>	6q22.1	<i>ROS Proto-Oncogene 1</i>	Ativa vias de sinalização da diferenciação, proliferação, crescimento e sobrevivência celular.	Translocações e deleções	Bergethon <i>et al.</i> (2012); Killock (2014)

<b>STK11</b>	19p13.3	Proteína serina-treonina cinase 11	Facilitadora da apoptose, regula a polaridade da célula, a diferenciação, motilidade, metastização e metabolismo celular.	Variantes no sítio de <i>splicing</i> e mutações <i>missense</i>	Donnelly <i>et al.</i> (2021)
<b>TP53</b>	17p13	p53	Reconhecimento de danos ao DNA e impede a proliferação das alterações genéticas.	Mutação <i>missense</i> e mutação <i>nonsense</i>	Assoun <i>et al.</i> (2019)

---

## 5 TRATAMENTOS CONVENCIONAIS

As principais intervenções tomadas para os pacientes com carcinoma pulmonar são a cirurgia, quimioterapia e radioterapia. Em relação à cirurgia, é uma técnica utilizada nos estágios iniciais do câncer, o que acaba sendo pouco realizada devido a maioria dos pacientes apresentarem um estágio mais tardio da doença quando diagnosticados (LEMJABBAR-ALAOUI *et al.*, 2015).

Portanto, a quimioterapia e a radioterapia são as terapias mais comuns para o tratamento do câncer de pulmão, podendo ser utilizadas em conjunto ou individualmente. Devido ao seu caráter agressivo, a sobrevida dos pacientes submetidos a este tratamento é de, aproximadamente, 5 anos após o diagnóstico. Além disso, muitos pacientes, quando identificado o carcinoma, já se encontram em idades mais avançadas, dificultando o tratamento devido aos efeitos colaterais (LEMJABBAR-ALAOUI *et al.*, 2015).

## 6 TERAPIA GÊNICA

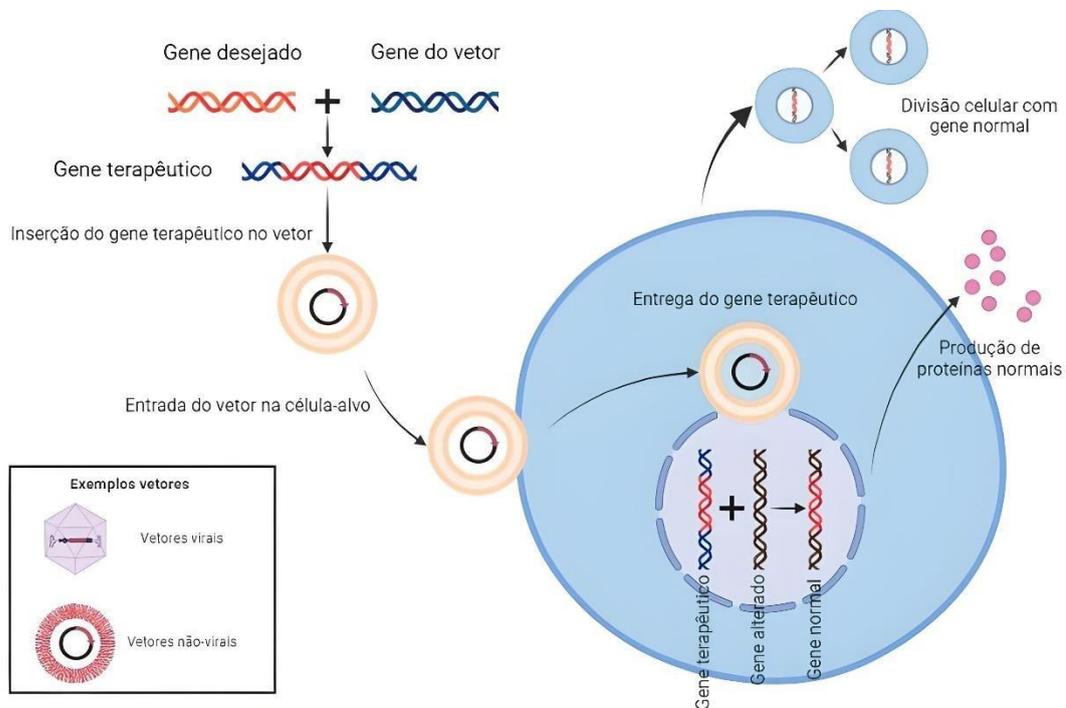
Atualmente, novas técnicas terapêuticas têm sido desenvolvidas para o melhoramento da resposta ao tratamento e sobrevida dos pacientes, isso não tem sido diferente para o câncer, doença que acomete milhares de pessoas no mundo. Com as descobertas genéticas ao longo das décadas, a terapia gênica é uma das grandes promessas para o tratamento dessa doença, mesmo ainda se encontrando em estudos (GONÇALVES; PAIVA, 2017).

A terapia gênica consiste na introdução de genes exógenos normais em células-alvo com o propósito de corrigir ou neutralizar os genes alterados nas doenças de caráter genético, a fim de alcançar a expectativa de tratamento (JIANG; LIN; ZHAO, 2019). Porém, esses genes sozinhos não são capazes de atravessar a membrana plasmática das células, sendo necessária a utilização de uma molécula carreadora que permita a entrada deles para o interior da célula, denominadas de “vetores”, que podem ser vetores virais ou não-virais (FIGURA 5).

Por se tratar de uma técnica que envolve a modificação genética, vários desafios são enfrentados para que o processo possa ser utilizado e aprovado. Neste caso, os vetores utilizados para o carreamento dos genes desejados devem possuir

características para o seu uso, como a alta especificidade e eficiência para os genes, não pode estimular uma resposta imunológica forte e precisa viabilizar a sua purificação em grande concentração, permitindo a sua produção em alta escala. Além disso, o vetor não pode induzir reações alérgicas ou inflamatórias e os genes utilizados devem ser capazes de aumentar as funções normais e/ou corrigir as alterações ou inibir as atividades do carcinoma. Assim, para que a terapia gênica no câncer possa ser eficiente, são considerados três fatores: o gene que será transferido, o método de transporte desse gene e a célula-alvo (TOLOZA; MORSE; LYERLY, 2006).

**Figura 5 – Representação da terapia gênica.**



**Fonte:** Elaborado pelo próprio autor.

No câncer de pulmão, devido a sua agressividade, alta mortalidade e baixa sobrevida, diferentes métodos terapêuticos têm sido estudados com o objetivo de melhorar os malefícios causados pelo próprio câncer e os efeitos colaterais dos tratamentos quimioterápicos e radioterápicos, sendo que a maioria das técnicas gênicas são utilizadas em conjunto a esses tratamentos para uma resposta positiva mais alta (VACHANI *et al.*, 2011). Algumas dessas técnicas incluem a aplicação do CRISPR/Cas9, introdução do WIF-1 (*Wnt Inhibitory Factor 1*), utilização de adenovírus via p53, *drug delivery* através de vetores, exossomos tLyp-1 (peptídeo tumor

específico que, seletivamente, se internaliza nos sítios tumorais e vasos sanguíneos, presentes no parênquima tumoral, via neuropilina-1), genes suicidas e utilização de miRNA, entre outras.

Com destaque aos microRNAs (miRNA), eles são pequenas moléculas de fita simples não codificantes responsáveis pela expressão gênica, que ao interagirem com o mRNA (RNA mensageiro), devido ao seu encaixe imperfeito, leva a repressão da expressão gênica, ou regulação da expressão pós-transcricional. Portanto, os miRNAs são utilizados em diferentes vetores, seja ele viral ou não viral (GANJU *et al.*, 2017).

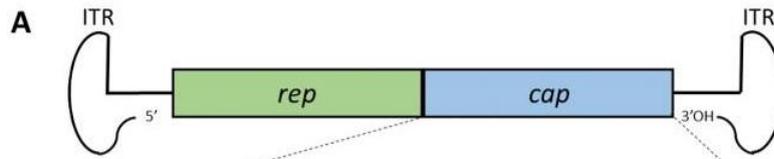
### 6.1 Terapia vetorial viral

A utilização de vírus para o transporte de genes é uma das técnicas mais utilizadas na terapia gênica. Isso se deve a sua propriedade de invasividade celular e introdução de material genético no DNA da célula-alvo, que de forma terapêutica é feita por meio da técnica de DNA recombinante (NAIM; YEREVANIAN; HAJJAR, 2013).

Assim, após a escolha do vírus para o carregamento dos genes desejados, é realizada a remoção dos genes virais responsáveis pela patogenicidade e replicação desse vetor, preservando apenas aqueles envolvidos na invasão celular sem que haja a sua multiplicação. Em seguida, são introduzidos os genes terapêuticos no DNA viral restante (NAIM; YEREVANIAN; HAJJAR, 2013).

Cada vez mais bem-sucedido, o vírus adenoassociado (AAV) tem sido um dos principais vetores virais estudados para a entrega de genes. Inserido na família Parvoviridae, o AAV é conhecido por não possuir patogenicidade, garantindo segurança no seu uso, e eficácia na entrega dos genes de interesse. Esse vírus possui uma fita de DNA simples que possui três regiões importantes (FIGURA 6): *Rep* (codifica proteínas que participam da replicação e integração genômica viral), *Cap* (formação de proteínas relacionadas na construção da cápsula viral) e ITRs (*inverted terminal repeats*) – regiões terminais ricas em G-C responsáveis na regulação da replicação do genoma viral e no direcionamento da sua integração (BISSERIER *et al.*, 2022).

**Figura 6 – Estrutura genômica do AAV**

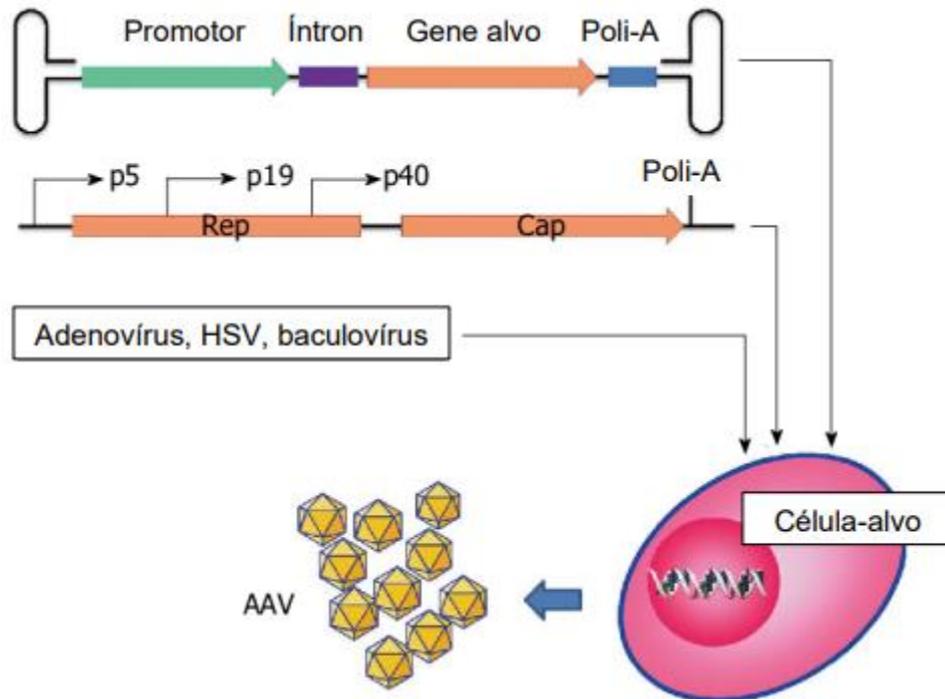


Fonte: Santiago-Ortiz e Schaffer (2016).

O AAV possui diferentes sorotipos capazes de interagir com receptores específicos, caracterizando o seu tropismo por tecidos alvos. Por exemplo, alguns estudos demonstraram que os sorotipos AAV2, AAV8 e AAV9 são eficientes para a entrega de genes nas células do pulmão (LOPES-PACHECO *et al.*, 2018). Porém, os AAV sozinhos não são capazes de se replicarem, ou seja, eles entram em estado latente e se integram na região cromossômica 19q13.3-qter, denominado AAVS1. Assim, são utilizados *helper virus* para auxiliar na replicação desse vetor através da coinfeção, principalmente, com o HSV (*herpes simplex virus*) (BISSERIER *et al.*, 2022).

A elaboração desses vetores é conhecida como vetores recombinantes de vírus Adeno-associado (rAAV), onde são necessários três elementos: os genes *rep* e *cap*, genes auxiliares do *helper* vírus e o cassete de expressão, em que há a presença do cDNA (DNA complementar) que codifica o transgene de interesse, um promotor e um sinal de poliadenilação. Esses elementos são divididos em plasmídeos (FIGURA 7), impossibilitando a replicação viral ao realizar a co-transfecção para a célula alvo. Além disso, esses vetores apresentam uma grande eficácia na expressão do transgene em células tanto em divisão quanto quiescentes (BISSERIER *et al.*, 2022).

**Figura 7** – Representação esquemática dos plasmídeos para a formação do rAAV



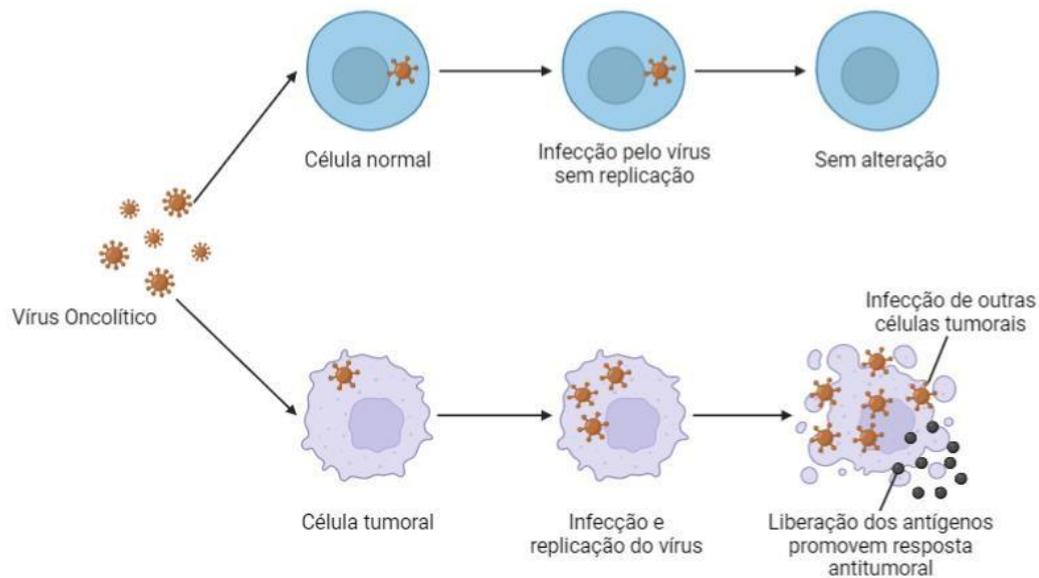
**Fonte:** Adaptado de Chen (2015).

As características apresentadas do rAAV têm gerado uma boa perspectiva em seu uso na terapia gênica, principalmente devido à sua eficácia e segurança.

Outra técnica também realizada, é a utilização do HSV-1 (*herpes simplex virus type 1*) como vetor devido à sua capacidade na introdução do transgene, possuir todo o seu genoma sequenciado, um conjunto amplo de hospedeiros, além de seu efeito de morte celular ser significativamente mais forte e rápido. Um estudo demonstrou a utilização do HSV-1 oncolítico recombinante com o gene *GALV.fus* (*gibbon ape leukaemia virus envelope fusogenic membrane glycoprotein*) – altamente tóxico tanto em células cancerígenas quiescentes quanto em divisão – e com um promotor UL-38 em células do adenocarcinoma pulmonar (ZHU *et al.*, 2014).

Os vetores oncolíticos possuem seu genoma modificado, principalmente, através de deleções em regiões específicas, tornando as células tumorais como seus alvos. Assim, esse estudo concluiu que a utilização do HSV-1 oncolítico recombinante se mostrou capaz em se replicar especificamente em células tumorais (FIGURA 8), em que houve expressão do gene *GALV.fus*, que foi controlada pelo promotor UL-38P, obtendo-se um resultado satisfatório, sugerindo ser um potencial vetor seguro e eficaz para o tratamento do câncer de pulmão com a terapia gênica (ZHU *et al.*, 2014).

**Figura 8** – Representação da ação dos vírus oncolíticos.



**Fonte:** Elaborada pelo próprio autor.

## 6.2 Terapia vetorial não viral

Os vetores virais possuem diversas limitações, como a sua imunogenicidade, amplo tropismo pelas células alvo (podendo infectar células saudáveis também), capacidade limitada no carregamento de determinada quantidade de DNA, além da dificuldade na sua produção. Para isso, avanços na tecnologia molecular permitiram a construção de vetores sintéticos, conhecidos como vetores não virais, com o potencial de atender as restrições encontradas nos vetores virais, principalmente na questão da segurança. Ou seja, esses vetores não virais, possuem menor imunogenicidade, capacidade de carregar e entregar cargas de DNA maiores e são, geralmente, mais fáceis de serem produzidos e seguros (YIN *et al.*, 2014).

### 6.2.1 Polímeros

O desenvolvimento e utilização de nanopartículas poliméricas para a entrega de genes, de forma terapêutica, vem sendo muito estudada devido a sua eficiência em carregar esses ácidos nucleicos e estabilidade quando introduzida *in vivo* (AMREDDY *et al.*, 2017).

No câncer de pulmão, é observada a expressão aumentada de *EGFR*. Assim, foi realizado um estudo em que se desenvolveu uma nanopartícula de quitosana

direcionada ao receptor EGFR carregando siRNA (*small interfering RNA*) para o silenciamento do gene *Mad2* – quando alterado, ocorrem consequências no processo de checagem na fase mitótica – em células do carcinoma pulmonar, mais especificamente as A549. Os resultados demonstraram um silenciamento completo desse gene (NASCIMENTO *et al.*, 2014).

Outro estudo feito utilizando nanopartículas, foi a introdução do *WIF1*, fator responsável pela inibição e apoptose de células cancerosas. O *WIF-1* tem seu gene metilado, no câncer de pulmão e outros, fazendo com que não seja expresso, favorecendo a proliferação das células alteradas (KIM *et al.*, 2007).

Em um estudo *in vitro* e *in vivo*, foi desenvolvido um polímero catiônico para CNPC, através da ramificação de aminoácidos entre o SP5-2 – peptídeo que se liga a receptores de células tumorais – e o PEI1800 (polietilenoimina) – polímero catiônico que condensa o DNA em partículas com cargas positivas, gerando complexos que adentram as células por endocitose. Assim, foi sintetizado o polímero de polietilenoimina (PEI) SP5-2 peptídeo (PES) para a entrega de genes, neste caso, *hWIF-1*. Como resultado, se obteve o acúmulo do gene supressor tumoral *hWIF-1* no local em que se encontrava o tumor, onde lentamente houve a degradação desse complexo PES/*hWIF-1* liberando esse fator, produzindo uma resposta apoptótica e reduzindo a proliferação das células do câncer de pulmão (YANG *et al.*, 2019).

Em outro estudo, foi realizada a associação entre o miRNA 34-a – identificado como um supressor tumoral, sendo capaz de inibir vários oncogenes como a  $\beta$ -catenina, *AXL*, *BCL2*, *C44*, *CDK1/6*, *E2F3*, *HDAC1*, *MEK1*, *MET*, *Nanog*, *Notch1*, *PDGFR- $\alpha/\beta$* , *SIRT1* e *Wnt1/3* – e o let-7b (miRNA supressor tumoral envolvido na apoptose, diferenciação e proliferação celular) em um experimento com CNPC. Esses dois componentes foram transportados por nanopartículas para os genes *KRAS* e *TP53* alterados, resultando na supressão da expressão desses genes, conseqüentemente, foi observado que ocorreu uma redução na proliferação celular e no crescimento tumoral (KASINSKI *et al.*, 2014).

### 6.2.2 Exossomos

Os exossomos são vesículas de membrana, secretadas por diversas células, que desempenham uma atuação importante na comunicação celular, principalmente nas respostas imunológicas e no câncer. Essas vesículas quando carregam mRNA ou

miRNA, transferem esses componentes para as células receptoras onde irão realizar suas funções, enviando as informações para as células-alvo (BAI *et al.*, 2020). Devido a essa propriedade dos exossomos, eles têm sido alvo de pesquisa para o transporte de genes na terapia gênica.

O tLyp-1 é um peptídeo capaz de se dirigir e adentrar em células tumorais devido a sua seletividade para receptores altamente expressos em tumores, incluindo o CNPC. Assim, ele é utilizado como uma molécula ligante de receptores alvos de células tumorais (ROTH *et al.*, 2011).

Desse modo, um experimento foi realizado construindo exossomos com o gene *tLyp-1*, que foi inserido através de uma membrana permeável, através da técnica de gene recombinante. Foram utilizados 3 tipos de siRNA para o silenciamento do gene *SOX2* – que se encontra aumentado no carcinoma, acelerando a proliferação celular, migração e invasão – incorporados nos exossomos através da tecnologia de eletroporação. Com a fusão da membrana do exossomo siRNA tLyp-1 com a célula alvo, ele é degradado e o siRNA é liberado, atraindo o RISC (*RNA-induced silencing complex*) levando ao silenciamento do gene *SOX2* (BAI *et al.*, 2020).

### 6.2.3 Gene suicida E

Os genes suicidas são muito utilizados para o estudo de novas terapias para câncer, devido a sua capacidade de induzir a morte das células do câncer. Pertencente a essa classe, o gene *E*, encontrado nos bacteriófagos  $\phi$ X174, foi utilizado para o estudo de um novo método de tratamento para o carcinoma pulmonar.

Por ser um gene suicida de baixa especificidade, podendo afetar tanto células tumorais quanto saudáveis, utilizaram em conjunto o *CEA* (*carcinoembryonic antigen*), garantindo a especificidade para células tumorais, e também associaram o PTX (paclitaxel), droga utilizada para o tratamento oncológico, aumentando a resposta de apoptose (BALLESTEROS *et al.*, 2019).

O *CEA* é responsável pela proteína de mesma denominação, a qual se apresenta elevada em pacientes com câncer, incluindo aqueles pertencentes ao grupo CNPC já com baixas taxas de sobrevivência. Assim, esse gene apresentou uma excelente resposta promotora específica para tumor direcionando o gene *E* para as células neoplásicas, levando a sua expressão, induzindo a apoptose dessas e não

danificando as células saudáveis. Em associação ao tratamento com PTX, houve um melhor efeito antitumoral nas células do câncer de pulmão, resultando na inibição do crescimento pulmonar e reduzindo o volume da massa tumoral (BALLESTEROS *et al.*, 2019).

#### 6.2.4 CRISPR/Cas9

A tecnologia CRISPR/Cas9 pode ser utilizada através tanto de vetores virais quanto de vetores não virais, principalmente, nanopartículas poliméricas. Essa tecnologia permite a edição do genoma de uma célula de forma efetiva, através da atividade da enzima Cas9, juntamente a um *single-guide* RNA (sgRNA), o DNA é clivado em sítios específicos permitindo que seja modificado por vias de reparo (DOENCH *et al.*, 2014). No câncer de pulmão, ocorre a ativação de proto-oncogenes e a inibição dos genes supressores tumorais que resultam no seu desenvolvimento, portanto a utilização da técnica CRISPR/Cas9 pode agir sobre esses genes, como também outros envolvidos na resistência a drogas utilizadas na quimioterapia e na diminuição da resposta imunológica (JIANG; LIN; ZHAO, 2019).

A aplicação do CRISPR/Cas9 envolve a utilização do sgRNA que irá conter a sequência do gene-alvo, indicando a região que a enzima Cas9 realizará a clivagem (ZURIS *et al.*, 2014). Alguns exemplos da sua aplicação no carcinoma pulmonar são a inativação dos oncogenes *EGFR* e *FAK*, no reparo e ativação dos genes supressores tumorais *GOT1*, *MFN2*, *KEAP1*, entre outros, dos genes *MET* e o *ALKEML4* envolvidos na resistência às drogas terapêuticas e, também, pode ser aplicada na edição de genes relacionados à regulação da atividade de células T (*PD1* e *PDL1*), restaurando a imunidade do paciente (JIANG; LIN; ZHAO, 2019).

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com as informações obtidas através de estudos experimentais, é possível observar a relevância da terapia gênica para o tratamento do carcinoma pulmonar. A utilização de técnicas vetoriais e não vetoriais, tem demonstrado um avanço para um melhor tratamento dos pacientes oncológicos, conferindo melhor prognóstico. Além disso, essa técnica também pode otimizar os resultados das drogas convencionais, realizando o direcionamento delas para as células alteradas.

## REFERÊNCIAS

AMREDDY, Narsireddy *et al.* Polymeric Nanoparticle-Mediated Gene Delivery for Lung Cancer Treatment. **Topics In Current Chemistry Collections**, p. 233-255, 2017. Springer International Publishing. [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-778662\\_9](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-778662_9).

ANATPAT-UNICAMP. **ANATOMIA PATOLÓGICA ÍNDICE ALFABÉTICO DE ASSUNTOS**. 2016. Disponível em: <https://anatpat.unicamp.br/indexalfa.html>. Acesso em: 21 nov. 2022.

ASSOUN, Sandra *et al.* Association of TP53 mutations with response and longer survival under immune checkpoint inhibitors in advanced non-small-cell lung cancer. **Lung Cancer**, [S.L.], v. 132, p. 65-71, jun. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lungcan.2019.04.005>.

BAI, Jing *et al.* Engineered targeting tLyp-1 exosomes as gene therapy vectors for efficient delivery of siRNA into lung cancer cells. **Asian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, v. 15, n. 4, p. 461-471, jul. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajps.2019.04.002>.

BALLESTEROS, Ana Rosa Rama *et al.* Specific driving of the suicide E gene by the CEA promoter enhances the effects of paclitaxel in lung cancer. **Cancer Gene Therapy**, v. 27, n. 9, p. 657-668, 24 set. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41417-019-0137-3>.

BERGETHON, Kristin *et al.* ROS1 Rearrangements Define a Unique Molecular Class of Lung Cancers. **Journal Of Clinical Oncology**, v. 30, n. 8, p. 863-870, 10 mar. 2012. American Society of Clinical Oncology (ASCO). <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2011.35.6345>.

BISSERIER, Malik *et al.* Novel Insights into the Therapeutic Potential of Lung-Targeted Gene Transfer in the Most Common Respiratory Diseases. **Cells**, [S.L.], v. 11, n. 6, p. 984, 12 mar. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cells11060984>.

BRAMBILLA, Christian *et al.* Lung Squamous Cell Carcinomas with Basaloid Histology Represent a Specific Molecular Entity. **Clinical Cancer Research**, v. 20, n. 22, p. 5777-5786, 4 set. 2014. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-14-0459>.

CARDARELLA, Stephanie *et al.* Clinical, Pathologic, and Biologic Features Associated with BRAF Mutations in Non-Small Cell Lung Cancer. **Clinical Cancer Research**, v. 19, n. 16, p. 4532-4540, 5 jul. 2013. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-13-0657>.

CHEN, Haifeng. Adeno-associated virus vectors for human gene therapy. **World Journal Of Medical Genetics**, [S.L.], v. 5, n. 3, p. 28, ago. 2015. Baishideng Publishing Group Inc. <http://dx.doi.org/10.5496/wjmg.v5.i3.28>.

CHENG, Junting *et al.* Oncolytic Herpes Simplex Virus ICP47 Deletion Reverses Tumor Immune Evasion. **Yangtze Medicine**, [S.L.], v. 02, n. 04, p. 214-224, dez. 2018. Scientific Research Publishing, Inc. <http://dx.doi.org/10.4236/ym.2018.24024>.

DEVITA JUNIOR, Vincent T.; LAWRENCE, Theodore S.; ROSENBERG, Steven A.. **DeVita, Hellman, and Rosenberg's Cancer: Principles & Practice of Oncology**. 11. ed. Filadélfia: Lippincott Williams, 2018.

DOENCH, John G *et al.* Rational design of highly active sgRNAs for CRISPR-Cas9-mediated gene inactivation. **Nature Biotechnology**, v. 32, n. 12, p. 1262-1267, 3 set. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nbt.3026>.

DONNELLY, Liam L *et al.* Functional assessment of somatic STK11 variants identified in primary human non-small cell lung cancers. **Carcinogenesis**, [S.L.], v. 42, n. 12, p. 1428-1438, 19 nov. 2021. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/carcin/bgab104>.

GANJU, Aditya *et al.* MiRNA nanotherapeutics for cancer. **Drug Discovery Today**, v. 22, n. 2, p. 424-432, fev. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2016.10.014>.

GONÇALVES, Giulliana Augusta Rangel; PAIVA, Raquel de Melo Alves. Gene therapy: advances, challenges and perspectives. **Einstein (São Paulo)**, v. 15, n. 3, p. 369-375, set. 2017. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s167945082017rb4024>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/eins/a/cPw3g6fGY8srqk5hs83dDKR/?lang=pt&format=html#>. Acesso em: 07 jul. 2021.

Instituto Nacional de Câncer (INCA). Ministério da Saúde. **ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer / Instituto Nacional de Câncer**. Rio de Janeiro, 2011. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/abc\\_do\\_cancer.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/abc_do_cancer.pdf). Acesso em: 05 jul. 2021.

International Agency For Research On Cancer. (IARC). **Cancer Today**. 2020. Disponível em: [https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-table?v=2020&mode=cancer&mode\\_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population\\_group=0&ages\\_group%5B%5D=0&ages\\_group%5B%5D=17&group\\_cancer=1&include\\_nmsc=1&include\\_nmsc\\_other=1](https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-table?v=2020&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&group_cancer=1&include_nmsc=1&include_nmsc_other=1). Acesso em: 30 jun. 2021.

JIANG, Chunyang; LIN, Xiaohui; ZHAO, Zhigang. Applications of CRISPR/Cas9 Technology in the Treatment of Lung Cancer. **Trends In Molecular Medicine**, v. 25, n. 11, p. 1039-1049, nov. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2019.07.007>.

JU, Y. S. *et al.* A transforming KIF5B and RET gene fusion in lung adenocarcinoma revealed from whole-genome and transcriptome sequencing. **Genome Research**, v. 22, n. 3, p. 436-445, 22 dez. 2011. Cold Spring Harbor Laboratory.

<http://dx.doi.org/10.1101/gr.133645.111>.

KASINSKI, A L *et al.* A combinatorial microRNA therapeutics approach to suppressing non-small cell lung cancer. **Oncogene**, v. 34, n. 27, p. 3547-3555, 1 set. 2014. Springer Science and Business Media LLC.

<http://dx.doi.org/10.1038/onc.2014.282>. Disponível em:

<https://www.nature.com/articles/onc2014282#article-info>. Acesso em: 09 jul. 2021.

KATAYAMA, Ryohei *et al.* Mechanisms of Acquired Crizotinib Resistance in ALK-Rearranged Lung Cancers. **Science Translational Medicine**, [S.L.], v. 4, n. 120, p. 120ra17, 8 fev. 2012. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.3003316>.

559

KILLOCK, David. Alternative rearrangements—targeting ROS1 in NSCLC. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 11, n. 11, p. 624-624, 14 out. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrclinonc.2014.180>.

KIM, Jae *et al.* Wnt inhibitory factor inhibits lung cancer cell growth. **The Journal of thoracic and cardiovascular surgery**, v. 133, n. 3, p. 733-737, 2007.

<https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2006.09.053>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022522306018812#>. Acesso em: 07 jul. 2021

LAFLEUR, Linnéa *et al.* Mutation patterns in a population-based non-small cell lung cancer cohort and prognostic impact of concomitant mutations in KRAS and TP53 or STK11. **Lung Cancer**, v. 130, p. 50-58, abr. 2019. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.lungcan.2019.01.003>.

LEMJABBAR-ALAOUI, Hassan *et al.* Lung cancer: biology and treatment options.

**Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Reviews On Cancer**, [S.L.], v.

1856, n. 2, p. 189-210, dez. 2015. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbcan.2015.08.002>.

LEWIS, Denise Riedel *et al.* US lung cancer trends by histologic type. **Cancer**, v. 120, n. 18, p. 2883-2892, 11 ago. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.28749>.

Disponível em:

<https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cncr.28749>. Acesso em: 05 jul. 2021.

LIANG, Hongge; WANG, Mengzhao. MET Oncogene in Non-Small Cell Lung Cancer: mechanism of met dysregulation and agents targeting the hgf/c-met axis.

**Oncotargets And Therapy**, [S.L.], v. 13, p. 2491-2510, mar. 2020. Informa UK

Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/ott.s231257>.

LOPES-PACHECO, Miquéias *et al.* Self-complementary and tyrosine-mutant rAAV vectors enhance transduction in cystic fibrosis bronchial epithelial cells.

**Experimental Cell Research**, [S.L.], v. 372, n. 2, p. 99-107, nov. 2018. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2018.09.015>.

MAO, Yousheng *et al.* Epidemiology of Lung Cancer. **Surgical Oncology Clinics Of**

**North America**, v. 25, n. 3, p. 439-445, jul. 2016. Elsevier BV.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.soc.2016.02.001>.

MAZIÈRES, J. *et al.* Lung cancer patients with HER2 mutations treated with chemotherapy and HER2-targeted drugs: results from the european euh2 cohort. **Annals Of Oncology**, v. 27, n. 2, p. 281-286, fev. 2016. Elsevier BV.  
<http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdv573>.

MUKHOPADHYAY, Sanjay; KATZENSTEIN, Anna-Luise A.. Subclassification of Non-small Cell Lung Carcinomas Lacking Morphologic Differentiation on Biopsy Specimens. **American Journal Of Surgical Pathology**, v. 35, n. 1, p. 15-25, jan. 2011. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health).  
<http://dx.doi.org/10.1097/pas.0b013e3182036d05>. Disponível em:  
[https://journals.lww.com/ajsp/fulltext/2011/01000/subclassification\\_of\\_non\\_small\\_cell\\_lung.2.aspx](https://journals.lww.com/ajsp/fulltext/2011/01000/subclassification_of_non_small_cell_lung.2.aspx). Acesso em: 05 jul. 2021.

NAIM, Charbel; YEREVANIAN, Armen; HAJJAR, Roger J.. Gene Therapy for Heart Failure: where do we stand?. **Current Cardiology Reports**, v. 15, n. 2, p. 333, 11 jan. 2013. Springer Science and Business Media LLC.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s11886-012-0333-3>

NASCIMENTO, Ana Vanessa *et al.* Mad2 Checkpoint Gene Silencing Using Epidermal Growth Factor Receptor-Targeted Chitosan Nanoparticles in Non-Small Cell Lung Cancer Model. **Molecular Pharmaceutics**, v. 11, n. 10, p. 3515-3527, 26 set. 2014. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/mp5002894>.

PAIK, Paul K. *et al.* Response to Erlotinib in Patients with EGFR Mutant Advanced Non-Small Cell Lung Cancers with a Squamous or Squamous-like Component. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 11, n. 11, p. 2535-2540, 14 ago. 2012. American Association for Cancer Research (AACR).  
<http://dx.doi.org/10.1158/1535-7163.mct-12-0163>.

PAO, William; GIRARD, Nicolas. New driver mutations in non-small-cell lung cancer. **The Lancet Oncology**, v. 12, n. 2, p. 175-180, fev. 2011. Elsevier BV.  
[http://dx.doi.org/10.1016/s1470-2045\(10\)70087-5](http://dx.doi.org/10.1016/s1470-2045(10)70087-5).

PLANCHARD, David; PÉCHOUX, Cécile Le. Small cell lung cancer: new clinical recommendations and current status of biomarker assessment. **European Journal Of Cancer**, v. 47, p. 272-283, set. 2011. Elsevier BV.  
[http://dx.doi.org/10.1016/s0959-8049\(11\)70173-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0959-8049(11)70173-3).

ROTH, L *et al.* Transtumoral targeting enabled by a novel neuropilin-binding peptide. **Oncogene**, [S.L.], v. 31, n. 33, p. 3754-3763, 19 dez. 2011. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/onc.2011.537>.

RUDIN, Charles M. *et al.* Lung Cancer in Never Smokers: molecular profiles and therapeutic implications. **Clinical Cancer Research**, v. 15, n. 18, p. 5646-5661, 14 set. 2009. American Association for Cancer Research (AACR).  
<http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-09-0377>.

SANTIAGO-ORTIZ, Jorge L.; SCHAFFER, David V.. Adeno-associated virus (AAV) vectors in cancer gene therapy. **Journal Of Controlled Release**, [S.L.], v. 240, n. 0, p. 287-301, out. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.01.001>.

SCHABATH, Matthew B.; COTE, Michele L.. Cancer Progress and Priorities: lung cancer. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, v. 28, n. 10, p. 15631579, out. 2019. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/1055-9965.epi-19-0221>.

TOLOZA, Eric M.; MORSE, Michael A.; LYERLY, H. Kim. Gene therapy for lung cancer. **Journal Of Cellular Biochemistry**, v. 99, n. 1, p. 1-22, 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jcb.20851>.

TORO, Paula *et al.* Carcinoma neuroendocrino de célula grande y adenocarcinoma lepidico pulmonar de aparición sincrónica: abordaje diagnóstico de segundos nódulos en pacientes con neoplasia pulmonar. **Revista Española de Patología**, [S.L.], v. 48, n. 2, p. 121-124, abr. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.patol.2014.08.003>.

TRAVIS, William D. *et al.* Diagnosis of Lung Cancer in Small Biopsies and Cytology: implications of the 2011 international association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society classification. **Archives Of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 137, n. 5, p. 668684, 12 set. 2012. Archives of Pathology and Laboratory Medicine. <http://dx.doi.org/10.5858/arpa.2012-0263-ra>. Disponível em: <https://meridian.allenpress.com/aplm/article/137/5/668/132511/Diagnosis-of-LungCancer-in-Small-Biopsies-and>. Acesso em: 05 jul. 2021.

VACHANI, Anil *et al.* Gene Therapy for Lung Neoplasms. **Clinics In Chest Medicine**, v. 32, n. 4, p. 865-885, dez. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccm.2011.08.006>.

WESTCOTT, Peter M. K.; TO, Minh D.. The genetics and biology of KRAS in lung cancer. **Chinese Journal Of Cancer**, [S.L.], v. 32, n. 2, p. 63-70, 5 fev. 2013. Editorial Office of Chinese Journal of Cancer. <http://dx.doi.org/10.5732/cjc.012.10098>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global Health Estimates: Life expectancy and leading causes of death and disability**. 2019. Disponível em: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates>. Acesso em: 30 jun. 2021.

YANG, Yi *et al.* Synthesis and Application of a Novel Gene Delivery Vector for NonSmall-Cell Lung Cancer Therapy. **Journal Of Biomedical Nanotechnology**, v. 15, n. 3, p. 431-442, 1 mar. 2019. American Scientific Publishers. <http://dx.doi.org/10.1166/jbn.2019.2695>.

YIN, Hao *et al.* Non-viral vectors for gene-based therapy. **Nature Reviews Genetics**, v. 15, n. 8, p. 541-555, 15 jul. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrg3763>.

ZAMECNIK, Josef; KODET, Roman. Value of thyroid transcription factor-1 and surfactant apoprotein A in the differential diagnosis of pulmonary carcinomas: a study of 109 cases. **Virchows Archiv**, v. 440, n. 4, p. 353-361, 19 out. 2001. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00428-001-0552-2>.

ZHENG, Min. Classification and Pathology of Lung Cancer. *Surgical Oncology Clinics Of North America*, v. 25, n. 3, p. 447-468, jul. 2016. **Elsevier BV**. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soc.2016.02.003>.

ZHU, Bing *et al.* Anti-tumor Effects of Gene Therapy with GALV Membrane Fusion Glycoprotein in Lung Adenocarcinoma. **Cell Biochemistry And Biophysics**, [S.L.], v. 69, n. 3, p. 577-582, 12 fev. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12013-014-9835-5>.

ZURIS, John *et al.* Cationic lipid-mediated delivery of proteins enables efficient protein-based genome editing in vitro and in vivo. **Nature Biotechnology**, v. 33, n. 1, p. 73-80, 30 out. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nbt.308>.

# OCORRÊNCIA DE ERROS PRÉ-ANALÍTICOS E O IMPACTO DE AÇÕES CORRETIVAS EM LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS

## OCCURRENCE OF PRE-ANALYTICAL ERRORS AND THE IMPACT OF CORRECTIVE ACTIONS IN A CLINICAL ANALYSIS LABORATORY

Rebeca Carreira dos Santos <sup>1</sup>  
Alberto Yoichi Sakaguchi <sup>2</sup>

563

### RESUMO

Os exames laboratoriais são, comumente, solicitados para diversas condutas clínicas. A fidedignidade dos resultados é o fator importante para tomada de decisão médica nas avaliações e condução clínicas. Desse modo, o estudo acerca da presença de erros laboratoriais é destacado na literatura que reconhece a fase préanalítica com maior percentual de erros. Considerando este cenário, o estudo teve por objetivo apresentar os principais erros pré-analíticos observados em laboratórios de análises clínicas e descrever ações corretivas que reduzam a incidência de tais erros disponibilizados na literatura acadêmica. Essa revisão bibliográfica reuniu estudos publicados, disponibilizados gratuitamente nas bases de dados Scielo, Google Acadêmico e periódico da CAPES a partir de palavras chaves e atendimento aos critérios de inclusão. Dentre os erros com maior ocorrência relatados nos estudos consultados estão relacionados com a hemólise, amostra insuficiente, transporte e armazenamento inadequado. Também foram descritos erros de preenchimento de formulários e falta de informações para o paciente. De forma geral, se reconhece e se recomenda a capacitação e formação continuada dos profissionais do laboratório, bem como a adoção de normas e regulamentações que, além de exigirem maior qualidade nos procedimentos, também conferem maior credibilidade. Além das implicações dos erros para a segurança do paciente, é pertinente considerar os custos desencadeados pelas coletas, sendo que, em grande parte dos casos poderiam ser evitados. Assim, a educação continuada e a observação dos procedimentos adequados corroboram para a melhoria do atendimento ao paciente e, também, para o incremento da qualidade ao passo da redução dos erros pré-analíticos.

**Palavras-chave:** erro de laboratório. fase pré-analítica. laboratório de análises clínicas. medicina laboratorial.

### ABSTRACT

Laboratory tests are commonly requested for various clinical procedures. The reliability of the results is an important factor for medical decision-making in clinical evaluation and management. Thus, the study on the presence of laboratory errors is highlighted in the literature that recognizes the pre-analytical phase with the highest percentage of errors. Considering this scenario, this study aimed to present the main pre-analytical

---

<sup>1</sup> Graduanda do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia - UniFil.  
rebecacarreira@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Orientador e docente titular do curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia - UniFil.  
alberto.sakaguchi@unifil.br

errors observed in clinical analysis laboratories and describe corrective actions that reduce the incidence of such errors available in academic literature. This bibliographic review brought together published studies made available free of charge in the Scielo, Google Scholar and CAPES journal databases based on key words and compliance with the inclusion criteria. Among the most common errors reported in the studies consulted are related to hemolysis, insufficient sample, inadequate transport and storage. Errors in filling out forms and lack of information for the patient were also described. In general, the continued training and training of laboratory professionals is recognized and recommended, as well as the adoption of standards and regulations that, in addition to demanding greater quality in procedures, also confer greater credibility. In addition to the implications of errors for patient safety, it is pertinent to consider the costs triggered by collections, which in most cases could be avoided. Thus, continued education and observation of appropriate procedures contribute to improving patient care and also increasing quality while reducing pre-analytical errors.

**Keywords:** laboratory medicine. clinical laboratory. laboratory error. preanalytical phase.

## 1 INTRODUÇÃO

Barros et al. (2023) reiteraram a importância dos exames laboratoriais para a área da saúde, uma vez que são solicitados em diversos contextos, seja para a prevenção, diagnóstico, prognóstico, avaliação da eficácia terapêutica implementada e também em solicitações de pré-operatório. Através de exames comumente realizados como o hemograma é possível avaliar o estado de saúde do indivíduo, fornecendo informações que auxiliam o diagnóstico de leucemias, processos infecciosos dentre outros distúrbios como as anemias (CAVALCANTE; OLIVEIRA; SANTOS, 2021).

Neste sentido, a realização adequada dos procedimentos para coleta do espécime é fator relevante para a tomada de decisão, uma vez que, conforme ressaltam Aragão e Araújo (2019), os exames laboratoriais podem influenciar em aproximadamente 70% das decisões médicas direcionadas ao paciente.

A temática sobre a ocorrência de erros laboratoriais ainda é estudada pela literatura em diferentes países e culturas, demonstrando o impacto do tema para a produção científica. No Brasil, os estudos de Guimarães et al. (2011), Romero et al. (2012), Codagnone et al. (2014) e também em outras localidades como Texas, no estudo de Cao et al. (2016), na Índia (AGARWAL et al., 2012; DHOTRE; DHOTRE; SHAIKH, 2020), na Turquia, (SINICI LAY; PINAR; AKBİYİK, 2014), Iraque (NAJAT,

2017), Etiópia (TADESSE et al., 2018), Coreia do Sul (LEE, 2019) buscaram identificar os erros pré-analíticos com maior frequência em cada realidade laboratorial estudada.

De acordo com Cadamuro e Simundic (2023), o estudo acerca de erros préanalíticos foi descrito pela primeira vez em 1970 e levou décadas para que os esforços em larga escala resultassem em efeito positivo para a melhoria da qualidade e padronização dos processos. As autoras destacam que as iniciativas de melhoria eram em nível local, mas que, em 2011, puderam se expandir a partir da criação do Grupo Fase Pré Analítica, fundado pela Federação Europeia de Química Clínica em parceria com o Laboratório do Grupo de Medicina.

A evolução tecnológica possibilitou aos laboratórios de análises clínicas o aumento no número e qualidade dos exames laboratoriais. No entanto, conforme apontam Rivello e Lourenço (2013), a tecnologia investida no setor está relacionada à questão do aparelhamento e não, necessariamente, à qualidade da coleta dos exames, implicando, ainda, em erro laboratorial.

Esse fato também é identificado e reiterado por Araújo e Cohen (2017) que ressaltam que a variedade de profissionais no processo que envolve etapas diversas, como cadastramento de requisições, recebimento de amostras, formas de coleta, atendimento, utilização de técnicas estabelecidas pelo laboratório bem como o acondicionamento de amostras até os profissionais envolvidos para análise contribuem para a possibilidade de erro.

Mesmo considerando todo o avanço tecnológico disponível nos laboratórios, a fase pré-analítica é a fase com maior incidência de erros, chegando ao percentual de 75%, conforme a revisão de Tischler (2021) apontando, ainda, que a maioria desses erros são decorrentes de falha humana, passíveis de correção.

A importância em se estudar acerca dos erros laboratoriais pode ser analisada com base em cinco fatores interdependentes. O primeiro deles reside na necessidade de disponibilizar resultados consistentes para pacientes e médicos, evidenciando a garantia da qualidade, uma vez que os resultados dos exames são parte do processo de tomada de decisão para tratamento de doenças e demais condutas clínicas. Guimarães et al. (2011) reiteram que, em casos de condições clínicas mais graves como doenças cardíacas, endócrinas e câncer, a fidedignidade e a segurança dos resultados dos exames são cruciais para o emprego de adequada conduta clínica.

A ocorrência de erros laboratoriais ocasiona atraso nos resultados de exames bem como a elevação dos custos financeiros para o laboratório. O atraso em exames acarreta na demora para o diagnóstico e tratamento de quadros clínicos, o que coloca a segurança dos pacientes em risco. No que tange ao laboratório, a necessidade da coleta dos exames, além de gerar maior custo, também gera desconforto para os pacientes, o que remonta o segundo fator acerca da eficiência e otimização dos processos (CRUZ; RUI, 2022; GUIMARÃES et al., 2011; ABREU, 2021).

O terceiro fator interdependente nos processos da fase pré-analítica é a garantia de rastreabilidade, que é essencial para a manutenção de padrões regulatórios aos laboratórios, inclusive na ocasião de auditorias, controle de qualidade e análise de eventuais discrepâncias (GUIMARÃES et al., 2011). O ato de estudar os erros pré-analíticos auxilia no estabelecimento de registros e documentação adequados que permitem a rastreabilidade das amostras desde a solicitação até a consolidação do resultado final.

O quarto fator a ser analisado na ocorrência de erros pré-analíticos está ligado a segurança dos pacientes, que, além de causar atraso na entrega de resultados, reflete negativamente no processo de diagnóstico e tratamento dos casos clínicos (GUIMARÃES et al., 2011). A precisão do laudo está relacionada com a confiabilidade do serviço, bem como com a fidedignidade dos resultados apurados durante todo o processo para a realização dos exames.

O último fator elencado para análise da pertinência em se estudar os erros pré-analíticos revela a oportunidade de implementação de estratégias de melhoria contínua da qualidade nos laboratórios, uma vez que, por meio do monitoramento e análise sistemática da incidência de tais erros, é possível estabelecer ações corretivas e preventivas a fim de promover o aprimoramento e padronização nos processos e procedimentos dentro do laboratório (SCHÄFER et al., 2022).

Neste sentido, ao se demonstrar a complexidade dos processos e das lacunas passíveis de erros pré-analíticos, também, é necessário considerar que todas as fases do processo de atendimento ao paciente estão ligadas com certa dependência na exatidão dos resultados da fase anterior, em especial a fase préanalítica. Desse modo, considerando a importância do trabalho realizado em laboratórios de análises clínicas, se questiona quais são os erros pré-analíticos com maior ocorrência e as possíveis

ações corretivas para minimização de tais erros.

Considerando o exposto, este estudo objetivou apresentar os principais erros pré-analíticos observados em laboratórios de análises clínicas e descrever ações corretivas que reduzam a incidência de tais erros disponibilizados na literatura acadêmica.

## **2 METODOLOGIA**

Esta revisão de literatura reuniu trabalhos com a temática relacionada aos erros pré-analíticos e medicina laboratorial. A metodologia empregada foi a de revisão bibliográfica por meio de pesquisa nos bancos de dados SciELO, Google Acadêmico e banco de teses e dissertações da CAPES, considerando o intervalo de 15 anos de publicação (2005 a 2023). Os critérios para seleção dos trabalhos foram: gratuidade de acesso; idioma em português e inglês; pertinência e correspondência ao tema. Os estudos foram identificados a partir das palavras-chaves: erros préanalíticos, fase pré-analítica, medicina diagnóstica, ações corretivas em laboratório, segurança do paciente e erro laboratorial.

## **3 A ROTINA DE TRABALHO EM LABORATÓRIOS DE ANÁLISES CLÍNICAS**

As atividades no setor de análises clínicas no Brasil são regidas por meio das disposições expedidas pelos Conselhos de Biomedicina, Farmácia e Medicina. Com o avanço da ciência e da tecnologia, foi possível criar subcategorias dentro das análises clínicas, resultando em grande variedade de exames laboratoriais para as áreas de bacteriologia, virologia, parasitologia, protozoologia, hematologia (SILVA et al., 2022).

As fases que compreendem o processo de atendimento do paciente dentro do laboratório de análises clínicas são descritas pela Resolução RDC nº302, de 13 de outubro de 2005, expedida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), composta pela fase pré-analítica, analítica e pós-analítica.

A fase pré-analítica se inicia com a solicitação da análise, passando pela obtenção de informações relevantes dos pacientes, bem como a coleta das amostras, identificação, armazenamento, transporte e recebimentos das amostras biológicas

pelo laboratório. Por incluir muitas etapas e participantes, a fase pré-analítica é apontada como responsável por grande parte dos erros laboratoriais, mesmo com o incremento gradativo de processos de automação e tecnologia laboratorial (MIRANDA; SANTOS; BRITO, 2021).

Souza et al. (2021) confirmam que na fase pré-analítica, a frequência de erros é variável, no entanto, com base em suas pesquisas, identificaram que é no setor de coleta que ocorre a maior ocorrência de erros, se configurando em um momento crítico para a fase analítica, além de se constituir em grande causa de rejeição da amostra, não importando o país em que o laboratório está localizado.

Zanetti, Wolf e Grandó (2022) destacam outras informações do paciente pertinentes a serem coletadas na fase pré-analítica: idade, sexo, raça, uso de medicamentos, exposição solar. Além disso, presença de hemólise, icterícia, lipemia, identificação dos tubos, o processo de coleta material e o transporte de amostras, também são fatores a serem devidamente observados uma vez que influenciam nos percentuais de erros existentes no processo.

### **3.1 Principais erros pré-analíticos identificados em laboratórios de análises clínicas**

Conforme mencionado acima, a fase pré-analítica se dá o introito com a coleta, seguida de fase analítica que engloba as operações técnicas relacionadas ao método solicitado para elaboração do resultado. Subsequentemente, a obtenção do resultado da análise é a característica da fase pós-analítica que se finda com a emissão do laudo para interpretação do solicitante, ou seja, a fase pré-analítica é o evento crítico para pontuar erros laboratoriais (ANVISA, 2005).

A partir do levantamento das referências que estudam acerca dos erros pré-analíticos, é possível identificar uma variedade de causas de erros. Exemplo disso é o estudo de Cruz e Rui (2022) que estudaram erros de cadastros e o impacto desse erro na rotina de trabalho e nos custos da não qualidade no laboratório. O tipo de erro mais comum identificado pelos autores foi o cadastro de exames incorretos, obtido por meio da inclusão e exclusão do pedido de exames dentro do sistema do laboratório. Esse tipo de erro gera custo para o laboratório, uma vez que, só é detectado após o equipamento ter realizado a técnica do exame, gerando, também, retrabalho para os

profissionais. Outro fator de geração de erro encontrado foi o atraso no processo de revisões que não é realizado de forma automática em acompanhamento das etapas dos processos.

Ainda, a revisão elaborada por Anvari et al. (2021) abordou as práticas pré-analíticas em testes de diagnóstico molecular. Os autores reuniram informações relevantes acerca das práticas mais adequadas para análise laboratorial de uma variedade de amostras de fluidos corporais, como fezes, urina, secreção pulmonar, sangue total, análises moleculares em tecidos sólidos não fixados, soro, plasma e amostras de diagnóstico pré-natal.

Os testes moleculares são solicitados por médicos com finalidade de chegar a um diagnóstico, escolha de estratégia de tratamento ou definição de estratificação prognóstica dos pacientes. No entanto, é notório a necessidade de avaliar a relação custo benefício de tais testes, dada a sua complexidade e o manejo do paciente. Dentre os testes incluem a amplificação do gene *HER2* em casos de câncer de mama, mutações do gene *EGFR* e arranjos do gene *ALK* em câncer de pulmão, mutações do gene *BRAF* em melanoma maligno, mutações do gene *RAS* em câncer colorretal, translocação do gene *BCR/ABL1* em leucemia mieloide crônica (LMC) e infecções virais (CREE et al., 2014; ANVARI et al., 2021)

Reitera-se o percentual importante relacionado aos erros na fase pré-analítica, indicando que, independente do método empregado, há que se considerar a variabilidade do espécime devido à manipulação antes da entrega das amostras para a análise. No que tange aos erros observados nos testes de diagnóstico baseados em ácido nucleico, se encontra a preocupação em manter a integridade do ácido nucleico, estabilidade e efeitos de algum agente interferente durante o transporte, extração e armazenamento da amostra (ANVARI et al., 2021).

O estudo de Saramela e Fernandes (2021) realizado em laboratório privado em Maringá, no Paraná, identificou os principais erros da fase pré-analítica para a realização do exame de urina de rotina. Os dados analisados pelos autores são do período de 2014 a 2018, em que foram cadastradas 107.277 amostras de urina. Destas, 98 amostras (0,09%) foram encaminhadas para coleta. Ao analisar a demanda das coletas, identificou-se maior quantidade nas amostras do sexo feminino, cuja justificativa de maior ocorrência foi devido à maior propensão de

mulheres com infecções urinárias, principalmente na fase de vida sexualmente ativa e de pós-menopausa. No que tange a justificativa de recoleta do referido exame, deu-se a quantidade de material insuficiente. Os autores defendem que a quantidade de recoleta foi menor ao percentual definido pelo laboratório, no entanto, salientam que tais recoletas poderiam ter sido evitadas se os pacientes tivessem sido bem instruídos quanto aos procedimentos de coleta adequados.

O conhecimento acerca das práticas e procedimentos é fator importante para a redução de erros na fase pré-analítica. Exemplo disso, é o estudo de Costa e Moreli (2012) que, a partir de uma revisão sistemática envolvendo 14 artigos publicados pela literatura, descreveram as principais variações biológicas encontradas na fase pré-analítica em laboratórios clínicos. As causas de erros descritas nas pesquisas reunidas pelos autores foram tempo de armazenamento (78,6%), tempo de torniquete (78,6%), técnica de flebotomia (64,3%), falta de informação aos pacientes (64,3%), relação incorreta de sangue/anticoagulante (57%), tubos inadequados (50%), amostras contaminadas (43%), medicamentos (29%) e alterações interlaboratoriais (29%). Este estudo reúne dados interessantes ao analisar diferentes rotinas e realidades laboratoriais, cuja demonstração de erros varia de local a local, mas reforça a necessidade de um programa de garantia da qualidade de forma eficiente que colabora para aumentar a segurança dos resultados.

O estudo de Miranda, Santos e Brito (2021) descreveu os índices de recoleta em um laboratório privado, na cidade de Salvador, no período de janeiro a dezembro de 2019, identificando os principais erros na fase pré-analítica. No período do estudo, o laboratório atendeu 428.921 pacientes em ambulatório. O maior índice para recoleta foi por falha no procedimento da coleta, seguido de presença de coágulo na amostra. A identificação de tais erros permite avaliar os processos da fase pré-analítica de modo a considerar estratégias para redução dos indicadores supracitados.

A falha na coleta está relacionada ao flebotomista que deve conhecer os procedimentos e protocolos a serem realizados para obtenção do material biológico. Neste sentido, é necessário que seja seguido a sequência adequada de tubos a serem utilizados bem como verificar o volume de sangue apropriado para cada tubo, realizando a homogeneização correta e a identificação dos recipientes após a coleta (LIMA-OLIVEIRA et al., 2009).

As amostras coaguladas são decorrentes da homogeneização insuficiente após a coleta ou também em ocasiões de dificuldade durante a coleta. A formação do coágulo afeta os parâmetros a serem avaliados na fase analítica do hemograma e, por esse motivo as amostras são desprezadas. Outro erro pré-analítico comum está na identificação da etiqueta, seja por falha de impressão ou posicionamento inadequado (LIMA-OLIVEIRA et al., 2009).

O estudo de Codagnone et al. (2014) realizado em hospital militar, que atende 41 especialidades, dispõe do serviço de laboratório clínico que realiza cerca de 19.500 coletas de sangue mensalmente e mais de 11.000 exames na área de hematologia, bioquímica, urinálise, microbiologia, imunologia e parasitologia. Além de ampla estrutura, o processo laboratorial é monitorado por controles internos de qualidade e também por ensaios de proficiência da Sociedade Brasileira de Patologia e Medicina Laboratorial a cada mês. Mesmo com a realização de tais controles, os autores ainda identificaram erros pré-analíticos cujo de maior ocorrência foram decorrentes de hemólise (27,54%), seguidos de material não recebido (25,43%) e amostra insuficiente (18,49%). Ao relativizar a análise para a frequência de erros, verificou-se que os erros pré-analíticos correspondem a 0,21% para o setor de ambulatório. A frequência relativa de erro encontrada pelos autores está de acordo com a literatura internacional que considera até 0,25%.

Com a finalidade de identificar não conformidades e ações corretivas ocorridas em um laboratório de análises clínicas, Schäfer et al. (2022) avaliaram formulários produzidos e armazenados pelo Laboratório de Análises da Universidade de Cruz Alta sob período de 2014 a 2020. De acordo com as análises dos autores nos 131 formulários de não conformidades, identificou-se que a fase pré-analítica concentrou 46,5% das amostras, sendo contaminação da amostra, coagulação plaquetária, volume insuficiente e hemólise nos casos de erros mais recorrentes.

Outro dado relevante neste estudo é que, os autores identificaram os setores em que mais se encontraram não conformidades. De acordo com os resultados, o setor de recepção relatou maior percentual de não conformidades (25,2%), seguidos do setor de coleta com percentual de 23,7%. Ambos os setores são parte da fase pré-analítica, responsáveis pela obtenção, transporte e identificação das amostras (SCHÄFER et al., 2022).

Considerando a rotina de um laboratório de análises clínicas e a prática profissional, o estudo de Carvalho (2019) teve por objetivo analisar o conhecimento dos estudantes do curso de Biomedicina acerca dos erros na fase pré-analítica da coleta de amostras hematológicas. A obtenção dos dados do estudo foi mediante aplicação de questionários aos estudantes participantes da pesquisa, elucidando os resultados de que os estudantes ainda apresentam falhas no conhecimento acerca dos procedimentos adequados para coleta das amostras hematológicas. A autora do estudo atribuiu este resultado à inexperiência dos estudantes com a prática laboratorial, sugerindo a necessidade e a importância de formação prática para o trabalho e os procedimentos adequados de coleta laboratorial.

### **3.2 Impactos de erros pré-analíticos e a coleta de exames laboratoriais**

A ocorrência de erros pré-analíticos causa a rejeição da amostra, ocasionando a coleta dos espécimes. Este processo gera desconforto ao paciente, desencadeando outros eventos negativos como insegurança, insatisfação e ansiedade para o paciente e para o médico. No que tange ao laboratório, a ocorrência de erros pré-analíticos e a coleta elevam custos, maior tempo para liberação de laudos e, ainda, a perda da credibilidade, confiança e segurança com o paciente e com o médico (GUIMARÃES et al., 2011).

Guimarães et al. (2011) reconhecem diversos fatores que corroboram para o acontecimento de erros pré-analíticos em laboratórios, ressaltando a alta rotatividade de profissionais, negligência, falta de entendimento sobre boas práticas em laboratório e treinamento ineficiente. Outro fator que está relacionado à incidência de erros é a ausência de padronização na fase pré-analítica.

Estudos engendrados por Carraro e Plebani (2007) com intervalo de dez anos evidenciam os principais erros cometidos na fase pré-analítica no Departamento de Medicina Laboratorial do Hospital Universitário de Padova, na Itália. O estudo de 1997 evidenciou uma frequência de 20,6% da ocorrência de erro em amostra colhida em membro com rota de infusão endovenosa. O segundo item com maior frequência de erro (18,1%) foi a perda da solicitação médica, seguido da interpretação incorreta da solicitação médica (3,2%) e erro na identificação do paciente (2,6%). Já no estudo de 2007, o item com maior frequência de erro foi a proporção incorreta entre sangue e

anticoagulante (13,1%). O erro na identificação do paciente aparece com maior frequência de erro (8,8%) quando comparado com o estudo de 1997, o que também é evidenciado no erro de interpretação incorreta da solicitação médica com frequência de 3,8% em 2007. Estes resultados indicam a necessidade de maior padronização de processos bem como indicam a necessidade de treinamento e aprimoramento dos profissionais.

O estudo de Abreu (2021) identificou os custos diretos relacionados às amostras não conformes na fase pré-analítica em um laboratório privado de análises clínicas no período de janeiro a dezembro de 2019. Os custos diretos na fase préanalítica são relacionados aos recursos humanos, material para coleta, equipamentos de proteção individual (EPI) e etiquetas de identificação. Durante o período de análise, a autora identificou que, cerca de 77% dos pedidos de coleta são decorrentes de falhas no ato da coleta de sangue. O segundo erro de maior frequência é a interpretação de requisição médica e a inscrição dos dados do paciente com 15,7%. Realizado o cálculo de custos diretos de coleta de amostras, chegou-se a um total de 3517,05€ por ano. Além disso, a autora também identificou que a etapa com mais erros é a fase da coleta da amostra biológica, principalmente das amostras de sangue, que se inclui com maior incidência amostras coaguladas, amostras coletadas para recipientes inapropriados, quantidade insuficiente de amostra, tempo demorado para coleta e amostras hemolisadas.

Souza (2020) realizou análise de custos em um laboratório de bioquímica clínica de um Hospital referência em Recife, durante os anos de 2018 a 2019, com relação aos indicadores para a coleta de urina 24 horas, as coletas e justificativas, coletas externas ao laboratório e a quantidade de solicitações de hemoglobina glicada. O custo de coleta dos exames de urina por utilização de coletores inadequados resultou custo total de R\$3248,06; o quantitativo de coletas resultou em custo de R\$338,13 e, das coletas externas ao laboratório, os custos totais foram de R\$1447,89. Os custos diretos de insumos no setor de bioquímica do laboratório estudado foram de R\$1838,76, nos quais, de acordo com os autores, esse custo é considerado desnecessário, visto que não colabora para a realização de novas terapias.

As demandas originárias da presença de erros pré-analíticos são de diferentes vertentes, mas que, no decorrer do processo de coleta, vão gerar custos para o

laboratório que poderiam ser evitados. Nesse sentido, conhecer ações para melhoria da qualidade nos procedimentos pré-analíticos corrobora para a redução de erros nesta fase, conforme descreve na próxima seção.

### 3.3 Ações para melhora da qualidade e redução de erros pré-analíticos

Guimarães et al. (2011) explanam que os erros sempre irão existir, no entanto, estes devem ser minimizados com o apoio de estratégias de controle da qualidade e o emprego de atividades que visem a formação, educação e cultura de todos os profissionais do laboratório.

No que tange ao controle de qualidade, Gaudencio (2023) reitera ações corretivas que visam a padronização de procedimentos, auditorias internas e profissionais capacitados para a execução do trabalho, bem como o credenciamento do laboratório aos órgãos de certificação com vistas a conferir credibilidade ao laboratório por meio das ações de controle externo. Tais órgãos de credenciamento são destacados pela autora, como o Programa Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ), previsto como obrigatório pela Resolução (RDC) 302:2005 da ANVISA, e o Programa de Excelência para Laboratórios (PELM) que realiza comparações interlaboratoriais de procedimentos e resultados, contribuindo para aperfeiçoamento das técnicas de coleta laboratoriais, corroborando para aumentar a fidedignidade e confiabilidade em laudos emitidos.

Lima-Oliveira et al. (2009) fundamentados em outros estudos, também ressaltam a importância da orientação adequada aos pacientes com relação ao tempo de jejum, efeito da realização de exercícios físicos extenuantes antes da coleta, influência do tabagismo e a caracterização correta do período do ciclo menstrual, bem como a utilização de determinados medicamentos.

Além disso, Cruz e Rui (2022) aplicaram ferramentas de gestão de qualidade com a finalidade de reduzir a ocorrência de erros no que tange ao cadastro incorreto e atraso nos processos de revisão. Os resultados analisados, a partir da ferramenta denominada 5W2H (do inglês: *Who? What? Where? When? Why? How? How much?*), sugeriram a necessidade de treinamento direcionado para cada setor e para todos os funcionários, acompanhamento individual no modelo de auditoria para identificar possíveis falhas e auxiliar nas dúvidas frequentes, considerando a rede laboratorial

com 14 unidades. Também sugeriram a inclusão de monitoramento do relatório de exclusões de forma a medir o custo que o laboratório dispense para as análises indevidas como medida para a redução de erros pré-analíticos.

Outra ferramenta de gestão da qualidade empregada em laboratórios e prevista pela ISO 9001 é o *Plan Do Check Act*, conhecida pela sigla PDCA, em que reúne oito princípios categorizados em: Planejar (o quê e como fazer; meios), Fazer (educar e treinar; fazer medindo), Verificar (verificar o que foi feito) e Agir (problemas: agir e mudar), observados de forma cíclica (GAUDENCIO, 2023).

Abreu (2021) também defende a importância de treinamento e formação dos profissionais, principalmente os profissionais envolvidos no processo de coleta de amostras, haja vista que, em seu estudo identificou grande frequência de erros nas amostras de sangue. No que concerne à coleta desse espécime, o estudo multicêntrico de Lippi et al. (2015) avaliou que a implementação de um check-list de flebotomia que enumera as etapas a serem seguidas numa coleta de sangue foi eficaz para a redução de erros pré-analíticos relativos à identificação incorreta de amostras e amostras coaguladas.

Com estratégia similar, Lima-Oliveira et al. (2009) propuseram uma lista de verificação para ser utilizada na definição de alguns indicadores de qualidade na fase pré-analítica, especificamente no processo de coleta do espécime diagnóstico sanguíneo. Os indicadores de qualidade propostos pelos autores estão em conformidade com normativas nacionais e internacionais. Com aplicação simples e eficiente, a lista permite detectar erros durante o procedimento de flebotomia, permitindo o planejamento de ações corretivas voltadas ao treinamento do flebotomista de modo que sejam minimizados os erros pré-analíticos.

Anvari et al. (2021) reiteram a necessidade e a importância de executar procedimentos confiáveis no processamento de amostras, uma vez que, esta ação resulta em maior precisão e reprodutibilidade dos testes de diagnóstico. Para análise de diferentes amostras biológicas, são necessárias práticas específicas a serem empregadas na fase pré-analítica. Amostras de tecido fixo são armazenadas em blocos de parafina, uma vez que, são fontes importantes de ácido nucleico para ensaios moleculares. Conhecer as especificidades dos tipos de fixadores de tecido é o fator importante para preservação dele, evitando a autólise dos componentes,

devendo ser observada de forma adequada na fase pré-analítica.

Dhotre, Dhotre e Shaikh (2020) buscaram compreender o impacto do treinamento dos profissionais encarregados pelas diversas atividades da fase pré-analítica. Constataram, então, que, após a realização de treinamento, a taxa de erros que era de 75,5% reduziu para 24,5%, demonstrando que a execução de treinamentos adequados é devidamente pertinente e eficaz para a redução de erros, gerando impactos positivos na qualidade dos exames e no aproveitamento das amostras coletadas.

Schäfer et al. (2022), após análise de não conformidades relatadas em formulários de um laboratório universitário, recomendam ações corretivas que reafirmam outros estudos, como a padronização das atividades de coleta e monitoramento de controles de qualidade para os procedimentos que englobam a fase pré-analítica. Os autores também reconhecem a importância da formação continuada para os profissionais, inclusive para os funcionários que ficam no setor de recepção, onde concentra as primeiras informações sobre o paciente no laboratório.

Costa (2017), ao observar a relevância do tema acerca de erros laboratoriais ocorridos na fase pré-analítica, identificou a oportunidade de elaborar uma terminologia para tais erros. A análise dele reuniu a partir de ampla revisão sistemática de estudos publicados em revistas de impacto científico significativo no período de 1990 a 2015, que resultou na identificação de 1527 manuscritos, mas, somente 37 enquadraram nos critérios elegidos pelo autor. As tipologias de erros identificadas para a fase pré-analítica foram: erros totais, erros de informação, erros de coleta, erros de manuseio e erros não especificados. Devido à variedade de subcategorias para a identificação dos erros, o autor propõe uma atualização crítica para elaborar uma classificação terminológica que pode ser adotada por toda a área, tanto para uso em sistema de informação quanto para a geração de indicadores de monitoramento laboratorial.

A principal contribuição do estudo de Costa (2017) reside na divulgação das terminologias para erros laboratoriais da fase pré-analítica de forma padronizada que colaborando tanto para a organização de sistemas de informação laboratorial quanto para o desenvolvimento de pesquisas acadêmicas acerca do tema de erros laboratoriais em análises clínicas.

Em relação aos parâmetros internacionais de padronização das ações em medicina diagnóstica, em 2017, o Regulamento Europeu de Diagnóstico *In Vitro* (IVDR) entrou em vigor e os diagnósticos que se enquadrem em seu escopo, emitidos a partir de maio de 2022, deverão estar de acordo com esta regulamentação. O impacto dessa ação é exigir nova certificação e para as instituições de saúde, que influenciará no desenvolvimento e uso de dispositivos internos, no diagnóstico de bioamostras, uma vez que descrevem padrões préanalíticos (DAGHER et al., 2019).

Ademais, o principal propósito das reformas regulatórias é promover níveis mais altos de evidências de segurança e qualidade, incluindo os diagnósticos *in vitro*. O diagnóstico *in vitro* é definido como qualquer dispositivo médico desde um reagente até software ou sistema, que seja utilizado sozinho ou em combinação, destinado pelo fabricante para ser usados *in vitro* para o exame de amostras, incluindo sangue e demais tecidos derivados do corpo humano para fornecimento de informações relativas a estado patológico, deficiências físicas ou mentais congênitas, predisposição para condição médica e para prever a resposta ou reações ao tratamento bem como definir ou monitorar medidas terapêuticas (DAGHER et al., 2019).

O impacto de tal regulamentação reside, sobretudo, na adequação das amostras a serem analisadas para a conformidade com o IVDR, que só poderá ser alcançado durante o manuseio das amostras coletadas e processadas sob condições pré-analíticas padronizadas. Exemplo disso é a ISO 20387 que descreve as conformidades e padrão de avaliação que fornece requisitos gerais para a coleta, transformação, armazenamento e distribuição de amostras biológicas e dados de forma a garantir qualidade adequada (DAGHER et al., 2019).

A aplicação do IVDR na fase pré-analítica reside na redução de erros de diagnóstico derivado da qualidade inadequada da amostra. Dessa forma, o IVDR solicita, explicitamente, informações relacionadas à qualidade da amostra no contexto de verificação do produto que se relaciona com o desempenho do ensaio. Dessas informações incluem parâmetros pré-analíticos importantes, como: tipo de amostra, estabilidade durante transporte e armazenamento, incluindo tempo e temperatura, limites e feitos dos ciclos de congelamento/descongelamento (DAGHER et al., 2019).

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo constatou que os erros pré-analíticos são uma realidade desafiadora na rotina de trabalho dentro de laboratórios de análises clínicas, correspondendo a 75% do total de erros laboratoriais, cuja maior incidência é de falha humana. Tais erros estão presentes e sempre irão existir, mas, por outro lado, podem ser amenizados com o emprego de medidas de gestão da qualidade, atreladas a capacitação e formação continuada de todos os profissionais que estão dentro do laboratório.

Os erros laboratoriais ocorridos na fase pré-analítica são definidos como aqueles que ocorrem desde a solicitação médica com exames laboratoriais inapropriados, erros durante a coleta, erros na orientação do paciente antes da coleta e, até mesmo a falta de orientação.

A existência de erros pré-analíticos são fatores que respingam nas demais fases analítica e pós-analítica, bem como na geração de laudos e de exames que podem comprometer diagnósticos por meio de resultados que não condizem com a real condição do paciente. De forma mais incisiva, comprometem a segurança do paciente e, em concomitância, a credibilidade do laboratório. Neste sentido, a adequação às normas de padronização bem como o conhecimento acerca dos procedimentos adequados contribui para a redução de tais erros que muitas vezes são simples conforme abordado na literatura como o preenchimento inadequado de formulários e ausência de informações pertinentes sobre o paciente, outros erros procedimentais relacionados à fase de coleta das amostras como amostras hemolisadas, uso de tubos inadequados e erros no transporte e armazenamento das amostras coletadas.

Tais erros implicam no dispêndio de custos para o laboratório no que tange a necessidade de recoleta que inclui gastos com materiais que poderiam ter sido evitados. Também se deve considerar o atraso que tais erros geram para o paciente que necessita do resultado para que o médico possa dar continuidade a conduta clínica adequada.

Como parte do processo, o paciente também deve ser considerado no que tange aos aspectos a serem observados na fase pré-analítica. Informações claras e

simples devem ser dirigidas ao paciente no sentido de que ele compreenda as especificidades necessárias para a preparação pré-coleta das amostras. A identificação e coleta dos dados pessoais dos pacientes também devem ser realizadas de forma adequada. Para tal, a importância da adoção de procedimentos padronizados e contínua preparação e reciclagem profissional são elementos de grande relevância para redução da ocorrência de erros em laboratórios de análises clínicas, haja vista que alguns procedimentos para coleta de exames não exigem um profissional específico.

Reiteramos a necessidade e importância do conhecimento de tais erros presentes na fase pré-analítica haja vista o trabalho dos profissionais de saúde, tanto os que atuam em laboratório e os que trabalham em outros espaços de serviço de saúde, de modo que não esgotamos as contribuições da temática, mas reunimos informações produzidas na literatura científica que respalda a prática profissional humanizada e de qualidade que dialoga com a segurança do paciente e com a credibilidade do trabalho prestado nos laboratórios de análises clínicas.

A partir da temática de identificação erros pré-analíticos se sugere que estudos sejam desenvolvidos no sentido de estimular a divulgação de normas padronizadas que favoreçam a qualidade das informações e dos procedimentos necessários para minimização de erros pré-analíticos, colaborando para a atualização de procedimentos e práticas adequadas nos laboratórios. Também se espera que seja compreendida a importância da adoção de tais práticas pelos laboratórios em conjunto com a promoção de medidas de educação continuada aos profissionais.

## REFERÊNCIAS

ABREU, P.M.R. **Custos diretos de amostras não-conforme do processo pré analítico num Laboratório de Análises Clínicas privado**. 2021. Dissertação. Mestrado Gestão e Avaliação de Tecnologias em Saúde. Escola Superior de Saúde. Universidade do Algarve. Lisboa.

AGARWAL, R. et al. Role of intervention on laboratory performance: Evaluation of quality indicators in a tertiary care hospital. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, [S. l.], v. 27, n. 1, 2012.

ANVARI, M.S. et al. Pre-analytical practices in the Molecular Diagnostic Tests, a concise review. **Iranian Journal of Pathology**, v. 16, n.1, 2021.

ARAGÃO D. P.; ARAUJO, R.M.L. Orientação ao paciente antes da realização de exames laboratoriais. **Rev. Bras. de Análises Clínicas**, v. 51, n. 2, 2019.

ARAÚJO, O, E. C. O.; COHEN, J. V. F. B. Erros da fase pré-analítica em análises clínicas. **Saber Científico**, v. 6, n. 1, 2017.

BARROS, E.R. et al. A importância dos exames laboratoriais para a saúde. **Estudos Avançados sobre Saúde e Natureza**, v. 3, 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução RDC nº302**, de 13 de Outubro de 2005a. Diário Oficial da União de 14 de outubro de 2005. Disponível em: [http://www.mte.gov.br/legislacao/Portarias/2005/p\\_20051111\\_485.pdf](http://www.mte.gov.br/legislacao/Portarias/2005/p_20051111_485.pdf) Acesso em 31/10/2009.

CADAMURO, J.; SIMUNDIC, A.M. The preanalytical phase – from na instrumentcentred to a patient-centred laboratory medicine. **Clin Chem Lab Med**, n.61, v.5, 2023.

CAO, L. et al. Causes and impact of specimen rejection in a clinical chemistry laboratory. **Clinica Chimica Acta**, v.458, 2016.

CARRARO P, PLEBANI M. Errors in a stat laboratory: types and frequencies 10 years later. **Clin Chem.**, v.53, n.7, 2007.

CARVALHO, L.V. **Análise do conhecimento de estudantes do curso de biomedicina do quinto e sexto semestres sobre a interferência da fase pré analítica nas amostras hematológicas**. 13f. Trabalho de Conclusão de Curso – (Graduação em Biomedicina) – Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, UNILEÃO, 2019. Disponível em: [https://sis.unileao.edu.br/uploads/3/BIOMEDICINA/LORENA\\_VITORIANO\\_CARVALHO.pdf](https://sis.unileao.edu.br/uploads/3/BIOMEDICINA/LORENA_VITORIANO_CARVALHO.pdf). Acesso em: 07 out 2023.

CAVALCANTE, R.O.; OLIVEIRA, I.V.T.C.; SANTOS, R.S.S. A importância do exame hemograma completo no diagnóstico das doenças. **Encontro de Extensão, Docência e Iniciação Científica (EEDIC)**,v.8, 2021.

CODAGNONE, F.T. et al. The use of indicators in the pre-analytical phase as a laboratory management tool. **J Bras Patol Med Lab**, v.50, n.2, 2014.

COSTA, E.G. **Revisão sistemática sobre os erros pré analíticos em Medicina Laboratorial: proposta de uma terminologia**. 113f. Dissertação (mestrado em Medicina Laboratorial e Tecnologia Forense) – Programa de Pós Graduação em Saúde, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2017.

COSTA, V.G.; MORELI, M.L. Principais parâmetros biológicos avaliados em erros na fase pré analítica de laboratórios clínicos: revisão sistemática. **Bras Patol Med Lab**, v.48, n.3, 2012.

CREE, I.A.; et al. Guidance for laboratories performing molecular pathology for cancer patients. **J Clin Pathol**. 2014; 67 (11):923-31.

CRUZ, P.S.; RUI, C. Estudo dos impactos de erros de cadastro dos processos de laboratório de análises clínicas. **Revista Conectus**, v.2, n.1, 2022.

DAGHER, G. et al. Pre-analytical processes in medical diagnostics: New regulatory requirements and standards. **New Biotechnology**, v.52, 2019.

DHOTRE, P. S., DHOTRE, S. V.; SHAIKH, A. K. A. R. Comparative study of preanalytical errors in central clinical laboratory in a tertiary care hospital in Maharashtra. **Journal of Krishna Institute of Medical Sciences University**, v.9, n.2, 2020.

GAUDENCIO, M.S. A importância do controle de qualidade em laboratórios de análises clínicas – uma revisão bibliográfica. **Brazilian Journal of Development**, v.9, n.1, 2023.

GUIMARÃES, A.C. et al. O laboratório clínico e os erros pré analíticos. **Rev HCPA**, v.31, n.1, 2011.

LEE, N. Y. Reduction of pre-analytical errors in the clinical laboratory at the University Hospital of Korea through quality improvement activities. **Clinical Biochemistry**, v.70, n.2, 2019.

LIMA-OLIVEIRA, G.S. et al. Controle da qualidade na coleta do espécime diagnóstico sanguíneo: iluminando uma fase escura de erros pré analíticos. **J Bras Patol Med Lab**, v.45, n.6, 2009.

LIPPI, G. et al. A multicentre observational study evaluating the effectiveness of a phlebotomy check-list in reducing preanalytical errors. **Biochimica clinica**, v.39, 2015.

MIRANDA, B.S.; SANTOS, M.S.; BRITO, V.S. Índice de recoletas em um laboratório provado de Salvador – BA no ano de 2019. **RBAC.**, v.53, n.4, 2021.

NAJAT, Dereen. Prevalence of pre-analytical errors in clinical chemistry diagnostic labs in Sulaimani City of Iraqi Kurdistan. **PLoS ONE**, [S. I.], v. 12, n. 1, 2017.

RIVELLO, V.V.; LOURENÇO, P.M. A prevalência de erro na fase pré-analítica nos laboratórios de análises clínicas. **Revista Saúde**, v.4, 2013.

ROMERO, A.; COBOS, A.; GÓMEZ, J.; MUÑOZ, M. Role of training activities for the reduction of pre-analytical errors in laboratory samples from primary care. **Clinica Chimica Acta**, v.413, n.1–2, 2012.

SARAMELA, M.M.; FERNANDES, T.R.L. Avaliação da fase pré analítica do exame de urina de rotina em laboratório privado da cidade de Maringá, Paraná, Brasil. **J Bras Patol Med Lab.**, v.57, 2021.

SCHÄFER, M.G. et al. Análise de não conformidades e ações corretivas em um laboratório de análises clínicas. **Saúde**, v.48, n.1, 2022.

SILVA, E.A. et al. Assertividade em exames laboratoriais – a importância das fases pré e pós-analítica com foco no diagnóstico final. **Revista Recifaqui**, v.2, n.12, 2022.

SINICI LAY, I.; PINAR, A.; AKBIYIK, F. Classification of reasons for rejection of biological specimens based on pre-preanalytical processes to identify quality indicators at a university hospital clinical laboratory in Turkey. **Clinical Biochemistry**, [S. l.], v. 47, n. 12, 2014.

SOUZA, A.A.S. **Avaliação da qualidade na fase pré-analítica do laboratório de Bioquímica clínica de um hospital de referência em Recife - PE**: um relato de custo. 2020. Dissertação (Mestrado em Gestão e Economia da Saúde) – Universidade Federal de Pernambuco, CCSA, 2020.

SOUZA, R.L.; SOUZA, D.S.; BARBOSA, M.C.M.; SILVA, A.F.; RESENDE, L.J. BRITO, G.C.; NASCIMENTO JUNIOR, J.A.A.; OLIVEIRA, T.V.L. Erros pré analíticos em laboratórios de análises clínicas: uma revisão. **Brazilian Journal of Health Review**, v.4, n.2, 2021.

TADESSE, Hirut; et al. Clinical chemistry laboratory errors at St. Paul's Hospital Millennium Medical College (SPHMMC), Addis Ababa, Ethiopia. **BMC Research Notes**, [S. l.], v. 11, n. 1, 2018.

TISCHLER, T.T. **Erros laboratoriais da fase pré analítica e suas interferências no laudo laboratorial**: uma revisão de literatura. 2021. 35f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia. Disponível em:  
<https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/33519/3/ErrosLaboratoriaisFase.pdf>.

ZANETTI, N. J.R; WOLF J. M; GRANDO, A. C. Comparação dos interferentes nas metodologias de química líquida e química seca na fase pré-analítica dos exames. **RBAC**, v. 54, n. 2, 2022.

# IMUNOTERAPIA COM ANTICORPOS MONOCLONAIS COMO UM NOVO TRATAMENTO DE CÂNCER DE PULMÃO DE PEQUENAS CÉLULAS

## IMMUNOTHERAPY WITH MONOCLONAL ANTIBODIES AS A NEW TREATMENT FOR SMALL CELL LUNG CANCER

Bruna Cardozo Rodolfo<sup>1</sup>  
Bruna Karina Banin Hirata<sup>2</sup>  
Andressa Megumi Niwa<sup>3</sup>

583

### RESUMO

O câncer é uma proliferação descontrolada de células que invade os tecidos. Atualmente constitui um problema de saúde pública mundial, pois é uma das doenças que mais mata. O câncer de pulmão de pequenas células (CPPC), representa 15% dos cânceres de pulmão, ele é causado principalmente pelo tabagismo, além de ser um câncer altamente agressivo, normalmente diagnosticado em estágios mais avançados. Devido a identificação tardia da doença, os procedimentos convencionais se mostraram lentos e pouco eficazes. Por essa razão, uma nova terapêutica está sendo utilizada para o CPPC, que é a imunoterapia com anticorpos monoclonais, no qual agem como inibidores do *checkpoint* imunológico. Com o objetivo de buscar informações recentes sobre as novas formas de tratamento do CPPC, o presente estudo foi desenvolvido a partir de uma busca de artigos científicos em sites como o SciELO, PubMed e Google Acadêmico. Os anticorpos aplicados são os anti-CTLA-4, anti-PD-1 e antiPD-L1 que caracterizam a imunoterapia Ipilimumabe, Nivolumabe e Atezolizumabe, respectivamente. Essas imunoglobulinas de glicoproteínas, podem ser combinadas entre si ou associadas à quimioterapia, que vão reconhecer e atuar em uma parte específica das células tumorais, a fim de eliminá-las, e conseqüentemente aumentar a sobrevida dos doentes, uma vez que esse câncer apresenta uma elevada taxa de mortalidade. No momento atual, dentre os anticorpos mencionados anteriormente, o Atezolizumab foi o que apresentou melhor taxa de resposta e sobrevida global entre os pacientes com câncer de pulmão de pequenas células em estágio extensivo.

**Palavras-chaves:** anti-CTLA-4; anti-PD-1; anti-PD-L1.

### ABSTRACT

Cancer is an uncontrolled proliferation of cells that invades the tissue. Currently, it constitutes a global public health problem, as it is one of the most deadly diseases.

<sup>1</sup> Discente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UNIFIL). E-mail: brunarodolfo@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Londrina (UEL). Especialização em Biologia Aplicada à Saúde, UEL. Mestrado em Patologia Experimental, UEL. Doutorado em Patologia Experimental, UEL. Docente do Departamento de Ciências Básicas da Saúde na Universidade Estadual de Maringá (UEM). E-mail: bkbhirata2@uem.br

<sup>3</sup> Graduada em Biomedicina pela Universidade Estadual de Londrina (UEL). Mestrado em Genética e Biologia Molecular, UEL. Doutorado em Genética e Biologia Molecular, UEL. Docente de ensino superior no Centro Universitário Filadélfia (UNIFIL). E-mail: andressa.niwa@unifil.br

Small Cell Lung Cancer (SCLC) represents 15% of the lung cancers and it is mainly caused by smoking. It is a highly aggressive type of cancer, with its diagnosis oftentimes held in more advanced stages of disease. Because of its late identification, conventional procedures have been proved slow and low effective. For this reason, a new therapy is being used for SCLC treatment, an immunotherapy with monoclonal antibodies, which behave as immune checkpoint inhibitors. In order to seek out recent information on new ways to treat SCLC, the present study was developed from a search for scientific articles on sites such as SciELO, PubMed and Google Scholar. The antibodies studied were the anti-CTLA-4, anti-PD-1 and anti-PD-L1, that characterize the immunotherapies Ipilimumab, Nivolumab and Atezolizumab, respectively. These immunoglobulins glycoproteins can be combined with each other or associated with chemotherapy, and work on a specific part of the tumor cells, in order to remove them and increase the survival chances of the patients, since this type of cancer has a high mortality rate. At the present time, among the antibodies mentioned above, Atezolizumab was the one that presented the best response rate and overall survival among patients with extensive stage small cell lung cancer.

**Keywords:** anti-CTLA-4; anti-PD-1; anti-PD-L1.

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer corresponde a uma massa tumoral maligna, que apresenta forma e tamanho variados, originado da proliferação descontrolada de células. Esse crescimento anormal das células tumorais é decorrente de alterações nos genes, deste modo, caracterizando o câncer como uma doença genética, geralmente levando anos para progredir (DONG; MARKOVIC, 2018). As mutações são influenciadas por fatores ambientais, tais como radiação, dieta, tabagismo, raios ultravioletas, entre outros, e isso é explicado pela incidência de cânceres específicos pelo mundo (PAUL; MALAKAR, 2019).

Segundo o Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), o Brasil no ano de 2020 apresentou 309.750 novos casos de neoplasias em homens e 316.280 em mulheres. O número de mortalidade no mesmo ano foi de 117.512 em homens e 108.318 em mulheres. No ano de 2018, foram registrados 18 milhões de casos de câncer e 9,6 milhões de óbitos no mundo. Dentro desses números, o câncer de pulmão é o mais incidente do mundo, com 2,1 milhões de casos. Foi realizada uma estimativa de novos casos de câncer no triênio 2020-2022 e o câncer de traqueia, brônquio e pulmão apresentou 30 mil novos casos.

Os tratamentos do câncer mais utilizado são a quimioterapia e a radioterapia, porém muitos tipos de cânceres não têm apresentado melhoria à terapêutica

convencional, como o câncer de pulmão. Muitos pacientes com essa doença respondem no início do tratamento, entretanto, existem tipos de câncer de pulmão mais difíceis de serem curados por causa da sua agressividade e do potencial de sofrer metástases (LEMJABBAR-ALAOUI et al., 2015). Por conta disso, foi introduzido um novo procedimento que é a imunoterapia, na qual utiliza o próprio sistema imunológico do paciente para produzir uma resposta contra as células tumorais. Existem diversos tipos de imunoterapias: anticorpo monoclonal, inibidores *checkpoint* imunológico e vacinas. A imunoterapia com anticorpo monoclonal é uma terapia biológica que inclui glicoproteínas do sistema imunológico que se ligam especificamente aos antígenos presentes em células cancerígenas (TSIOUPROU; ZAHARIAS; SPYRATOS, 2019).

Existem dois tipos de câncer de pulmão: o câncer de pulmão de pequenas células (CPPC) e o câncer de pulmão de não pequenas células (CPNPC). Atualmente, somente o CPNPC possui a imunoterapia com anticorpos monoclonais aprovados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) para uso, ficando o CPPC carente de uma terapia alvo-específica. Desta forma, o presente trabalho visa demonstrar a eficácia da imunoterapia com anticorpos monoclonais no tratamento do câncer do pulmão de pequenas células.

## 2 METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado através de uma pesquisa bibliográfica de caráter exploratório e qualitativo contendo dados, conceitos e técnicas retirados de artigos científicos, teses e dissertações sobre o tema em bibliotecas, sites e plataformas online como o SciELO, PubMed e Google Acadêmico. A fim de obter um trabalho com dados atualizados, foi dada preferência para trabalhos publicados nos últimos dez anos (2012 a 2022). As buscas ocorreram pela seleção das palavras-chave, como “câncer de pulmão de pequenas células”, “imunoterapias com anticorpo monoclonal”, e pela restrição do período das publicações. Em seguida, foram realizadas as leituras, fichamentos e resenhas dos artigos, os quais serviram de embasamento teórico para a construção do trabalho final.

### 3 CÂNCER

O câncer consiste em um grupo de doenças malignas que possui como característica uma proliferação descontrolada de células que se acumulam formando um tumor em uma determinada área do organismo, podendo atingir a circulação sanguínea e disseminando para outros tecidos e órgãos, sendo este processo denominado metástase (DONG; MARKOVIC, 2018). Esse crescimento anormal de células tumorais é decorrente de alterações em determinados genes, fundamentando o câncer como uma doença genética, sendo necessárias várias mutações no tecido afetado para se desenvolver, geralmente levando anos para progredir (HAUSMAN, 2019).

As células cancerígenas são resultantes da divisão clonal, a qual acomete células somáticas e a mutação é transferida através da mitose criando clones de células com o caráter neoplásico. Isto significa que a mutação da primeira célula cancerosa está presente em todas as células tumorais seguintes (GRAHAM; SOTTORIVA, 2016). Ainda, uma evolução clonal pode ocorrer dentro dessa população de células, formando um aglomerado de células contendo várias novas mutações que aumentam a capacidade agressiva da proliferação celular. Além disso, a mutação pode ocorrer em células da linhagem germinativa e, durante a meiose e reprodução sexual, o traço mutado pode ser transmitido para quase metade da geração seguinte, onde todas as células receberão a mutação (HAUSMAN, 2019).

Independentemente de o câncer ser uma doença genética, a grande maioria não é herdada, mas influenciada por fatores ambientais, tais como radiação, dieta, tabagismo, raios ultravioletas, entre outros, fenômeno explicado pela incidência de cânceres específicos pelo mundo. O câncer esporádico ou isolado é o que acomete a maioria da população, representando 90% dos casos. Esse tipo não é transmitido para as futuras gerações, de modo que as mutações acontecem nas células somáticas e o surgimento da doença é consequência de uma única mutação dominante ou duas recessivas no mesmo gene. Por outro lado, o câncer de linhagem germinativa, ou herdado, é aquele que pode ser transmitido para os descendentes, pois atinge todas as células do indivíduo, incluindo os gametas, com número de ocorrências baixo, entre 5 a 10% (PAUL; MALAKAR, 2019). A doença aparece quando uma segunda mutação acontece em uma célula somática e possui uma penetrância alta com tendência de aparecer mais cedo na vida (HAUSMAN, 2019).

Existem diversos genes que podem ser alterados e originar o câncer, entretanto, os principais afetados são aqueles que controlam a divisão celular. Para o ciclo celular ser bem-sucedido, é preciso que os genes que estimulam e inibem sejam ativados quando e onde necessários. Em condições normais, a proliferação acontece pela ação dos proto-oncogenes, frequentemente dominantes. Porém, quando sofrem uma mutação, passam a ser hiperativos, ou seja, começam ser ativados no momento errado causando um aumento descontrolado na proliferação celular, e passam a ser chamados de oncogenes (ALMEIDA et al., 2005).

Para controlar o ciclo celular, existem os genes que impedem que as células se multipliquem, os quais são chamados de genes supressores tumorais. Quando eles sofrem deleção ou inativação de dois alelos, a doença se manifesta (WANGA et al., 2018). Considera-se que 90% do câncer é causado pelos oncogenes, enquanto mutações em genes supressores tumorais são o motivo de apenas 10%, sendo mais difícil de ser identificado (HAUSMAN, 2019).

Durante a replicação, alguns erros podem ocorrer, no entanto, os genes de reparo são capazes de conter os danos no DNA. Apesar disso, algumas alterações atingem esses genes fazendo a doença se manifestar. Por conseguinte, o câncer é a propagação de células defeituosas que cresce devido às mutações em genes importantes para o controle do ciclo celular e que não foram destruídas em razão da inibição da morte celular programada, a apoptose (HAUSMAN, 2019).

### **3.1 Câncer de pulmão**

Como exposto anteriormente, o câncer pode atingir diversos tecidos. No ano de 2020 no Brasil, foram registrados 17.760 casos de cânceres de pulmão em homens e 12.440 casos em mulheres. Nesse período, a taxa de mortalidade referente aos dois gêneros foi de 28.620 para os cânceres de pulmão (INCA, 2022c). Esse câncer é ocasionado principalmente pelo tabagismo, pois as substâncias como hidrocarbonetos, policíclicos aromáticos e nitrosaminas presentes na fumaça do cigarro produzem alterações no genoma, sendo considerados carcinogênicos (VIEIRA et al., 2017).

Esse câncer é classificado de acordo com a histologia, incluindo o câncer de pulmão de pequenas células (CPPC), que corresponde aproximadamente 15% dos cânceres de pulmão, e câncer de pulmão de não pequenas células (CPNPC), que

representa 85%. A classificação em duas categorias distintas é importante, pois auxilia no diagnóstico, tratamento e prognóstico da doença (MEERBEEC; FENNELL; RUYSSCHER, 2011).

Os sintomas mais comuns do câncer de pulmão são: tosse, podendo ter muco e/ou sangue, dores no peito, rouquidão, perda de apetite, perda de peso sem explicação, falta de ar, fadiga, infecções recorrentes, além de apresentar pneumonia e dispneia. Alguns pacientes podem desenvolver embolia pulmonar (NASIM; SABATH; EAPEN, 2019).

O câncer de pulmão de não pequenas células é o subtipo predominante entre os pacientes. Ele é subdividido em três categorias: adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas e carcinoma de células grandes (KALEMKERIAN et al., 2013). No tecido de pacientes com CPNPC é possível observar células com citoplasma abundante, núcleos pleomórficos com padrão de cromatina grosseira, nucléolos proeminentes e estrutura glandular ou escamosa pavimentosa (IARC, 2015; ROSKOSKI, 2017).

Já o câncer de pulmão de pequenas células, na classificação da OMS em 2015, foi definido como um carcinoma neuroendócrino (INAMURA, 2017). As células tumorais apresentam citoplasma escasso, núcleos ausentes ou pequenos e hiper cromáticos com cromatina de padrão fino e nucléolos indistintos com bainhas de células difusas (ROSKOSKI, 2017). Ele também possui crescimento rápido com alto desenvolvimento de metástase, deixando esse tumor maligno e com caráter bastante agressivo (KALEMKERIAN et al., 2013). Além disso, o CPPC é caracterizado por perda da função dos genes *TP53* e *RB1*, que são importantes para o ciclo celular, com papel de supressor tumoral, reparo de DNA e indução da apoptose (ROPER et al., 2021).

O CPPC pode ser classificado em estágio limitado (EL) cujo tumor está presente apenas em um lado do tórax e há comprometimento de linfonodos regionais associados. Acomete aproximadamente 35 a 40% dos pacientes e o estadiamento TNM (tumor-nódulo-metástase) inclui os estágios I a III. Já no estágio extensivo (EE), há disseminação para o outro pulmão e linfonodos, além da metástase para outros órgãos. O EE inclui pacientes de TNM IV e acontece na maioria dos casos, na faixa de 60 a 65% (BERNHARDT; JALAL, 2016).

### 3.2 Diagnóstico do CPPC

O diagnóstico do CPPC é feito através de exames como a broncoscopia, no qual é utilizada uma microcâmara para analisar o aparelho respiratório, a cintilografia óssea que detecta metástase, o radiografia do tórax com o uso de radiação ionizante, e tomografia computadorizada do tórax, que também utiliza radiação, porém esse método de diagnóstico produz imagens transversais detalhadas do corpo. Além desses exames, a biópsia é utilizada em alguns casos e é o procedimento mais eficaz (NOORELDEEN; BACH, 2021).

A imunohistoquímica também tem auxiliado no diagnóstico do CPPC, pois pacientes acometidos com essa doença geralmente estão em estágio extensivo devido ao diagnóstico tardio e o mau prognóstico. Dessa forma, marcadores tumorais relacionados à proliferação celular (c-kit, MAPK, NQO1 e Topo-II), à supressão tumoral (EPHA3, ENTALHE-1 e TTF-1), à invasão e metástase (MET, c-MET, CXCR4, uPAR, NSE, CD151, DJ-1, LDL e LDLR), à apoptose (DEK, HOXA1, WBP5) e à angiogênese (PD-L1 e PD-L2) são úteis para estabelecer o melhor tratamento (YUAN et al., 2021).

### 3.3 Tratamento do CPPC

O tratamento do câncer de pulmão de pequenas células depende da histologia, saúde geral e comorbidades do paciente. A terapêutica mais utilizada para esse tipo de câncer é a quimioterapia e radioterapia, e, embora os pacientes com CPPC respondam no início do tratamento, essa doença é muito difícil de curar por causa da sua agressividade e do potencial de criar metástase (LEMJABBAR-ALAOUI et al., 2015).

Os pacientes com CPPC apresentam uma taxa de sobrevida de 18 a 24 meses e 20% deles, quando vencem a quimioterapia, aumentam esse índice para 5 anos. Quando a doença está em estágio extensivo, a sobrevida é de 8 a 10 meses (HAMILTON; RATH, 2019).

A quimioterapia é um tratamento que utiliza fármacos para combater as células neoplásicas. É realizado de maneira sistêmica, onde a substância absorvida é disseminada para todas as regiões do organismo via sistema circulatório sanguíneo. Seu objetivo é destruir todas as células anormais, inibindo, assim, a formação do tumor

e sua expansão. Existem diversos tipos de compostos aplicados na quimioterapia e a escolha ideal para um determinado tratamento depende do tipo de célula afetada e até que ponto o tumor se espalhou. Por ter ação sistêmica, não são apenas as células mutadas que vão sofrer a intervenção desse tratamento (INCA, 2022a). Para os pacientes com estágio extensivo do CPPC, a quimioterapia de carboplatina e etoposide é a utilizada (YANG; ZHANG; WANG, 2019).

Cirurgia e radioterapia são os procedimentos mais indicados para tratar os pacientes em estágio limitado da doença. A radioterapia utiliza radiações ionizantes para destruir as células cancerosas (INCA, 2022b). O uso desse tratamento nos pacientes com CPPC-EL mostrou uma melhora de controle local de 25,3% e a da sobrevida em 5,4% em 2 a 3 anos quando diagnosticados e tratados no início da doença, o que normalmente não acontece. Já nos casos extensivos, a radioterapia é utilizada apenas como tratamento paliativo para aliviar os sintomas e a metástase (VINOD; HAU, 2020).

Devido ao estágio extensivo dessa enfermidade no momento do diagnóstico e a baixa taxa de cura, introduziu-se um novo procedimento, a imunoterapia, a fim de aumentar a sobrevida dos pacientes (TSIOUPROU; ZAHARIAS; SPYRATOS, 2019).

### 3.4 Imunoterapia

O câncer de pulmão de pequenas células, por ser diagnosticado em estágio avançado na maioria dos casos, não tem apresentado resultados satisfatórios com o tratamento convencional. Deste modo, a imunoterapia aparece como uma nova alternativa para os enfermos. Essa forma de terapia utiliza o próprio sistema imunológico para produzir uma resposta contra as células tumorais. Existem diversos tipos de imunoterapia, entre eles o uso de anticorpos monoclonais (TEIXEIRA et al., 2019).

O anticorpo monoclonal (mAb, *monoclonal antibody*) é uma imunoglobulina sintetizada a partir de um único clone de linfócito B. Os mAbs são formados por hibridomas, que consiste na fusão de uma célula de mieloma com um linfócito B, os quais vão se ligar a um específico epítipo antigênico (MACEDO, 2018). Estes anticorpos apresentam maior especificidade e, por isso, são mais efetivos, uma vez que preservam as células saudáveis, provocando efeitos menos citotóxicos como a quimioterapia convencional e, conseqüentemente, diminuem os efeitos colaterais. Por

causa dessas características, o anticorpo monoclonal também é chamado de terapia alvo-específica (VIDAL; FIGUEIREDO; PEPE, 2018).

Além da alta especificidade, o uso dos mAbs expressa outras vantagens como produção em larga escala e menor toxicidade em comparação a outras terapias. Entretanto, o alto custo e a probabilidade da perda de função frente a uma mutação no epítipo tumoral são as desvantagens dessa imunoterapia (MACEDO, 2018). Além da aplicação na terapia do câncer, os mAbs podem ser utilizados em transplantes, tratamento de grande variedade de doenças autoimunes e na composição de conjuntos reativos para o diagnóstico (REZENDE; AMORIM; MORAIS, 2021).

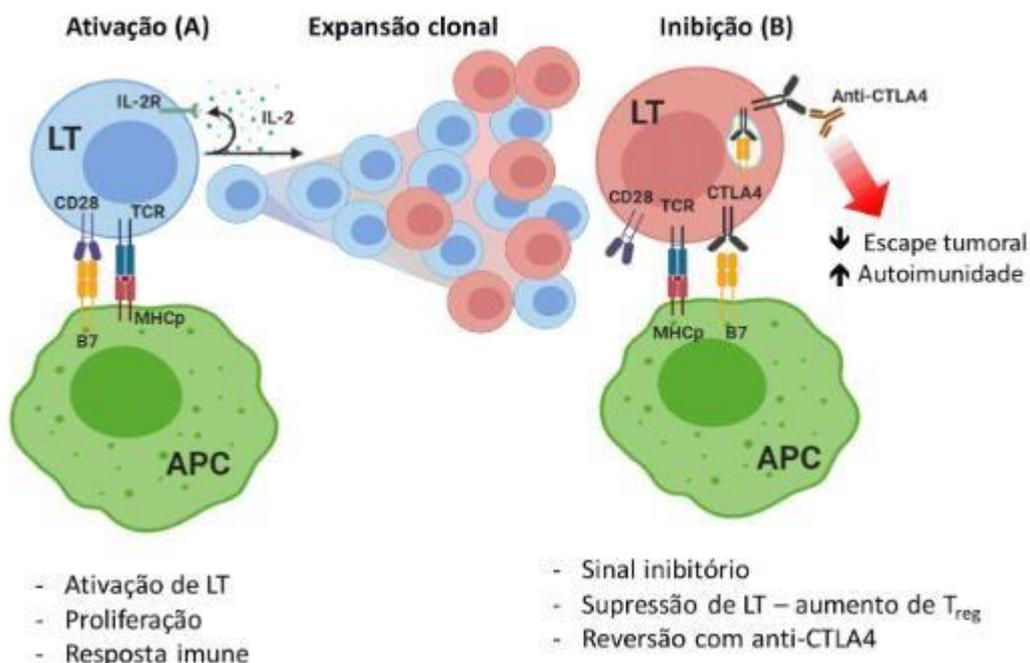
Dessa maneira, como o CPPC é um câncer bastante agressivo e apresenta um mau prognóstico, a imunoterapia de anticorpos monoclonais orientada a inibidores de checkpoint imunológico, como o anti-PD-1, anti-PD-L1 e anti-CTLA-4, foi analisada como o melhor tratamento para ativar a resposta imunológica antitumoral (HAMILTON; RATH, 2019).

No sistema imunológico, a resposta imune acontece quando existe a ativação dos linfócitos T e, para isso, uma série de ligações entre receptores e ligantes devem ocorrer. A primeira ligação se verifica entre o receptor do linfócito T (TCR) e o antígeno revelado pela molécula de MHC (complexo principal de histocompatibilidade) presente nas células apresentadoras de antígenos (APCs). Ainda assim, apenas essa interação não é forte o suficiente para ativar todo o sistema imunológico, de modo que outra ligação é necessária. A segunda interação ocorre entre a molécula CD28 expressa em linfócitos e o CD80 (B7-1) / CD86 (B7-2) em APCs. A partir disso, ocorre a produção de citocinas, permitindo a ativação e proliferação das células do sistema imune (JORGE, 2019).

A molécula CTLA-4 (antígeno 4 associado ao linfócito T citotóxico) presente nos linfócitos T é homóloga à molécula CD28 e se liga com mais afinidade ao receptor CD80 e CD86 em APCs. No entanto, ela apresenta caráter inibitório da resposta inflamatória, no qual sua expressão ocorre depois que as células T tiveram uma exposição prolongada ao antígeno e alcançarem um perfil “exausto”, fazendo com que sua atividade seja reduzida (NEVES, 2013). Desta forma, em pacientes com câncer, esse mecanismo favorece a proliferação das células tumorais, visto que as células do sistema imune vão ser inibidas pela ação do CTLA-4. Para converter essa situação, é utilizado um anticorpo monoclonal anti-CTLA-4 para inibir a supressão causada por esta molécula, provocando um aumento da resposta imune, para uma maior atividade

antitumoral. O primeiro anticorpo monoclonal desenvolvido contra o CTLA-4 foi o Ipilimumabe (TEIXEIRA et al., 2019), cujo mecanismo de ação está ilustrado na figura 1.

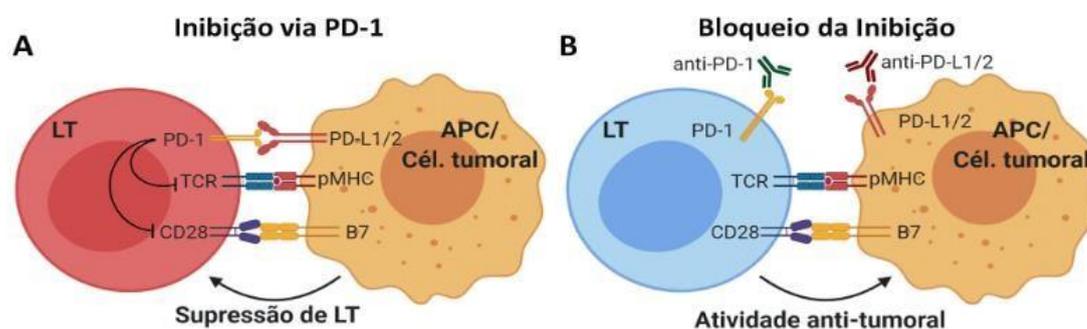
**Figura 1** – Mecanismo de ação do anticorpo anti-CTLA-4.



Fonte: Teixeira et al., (2019).

A proteína PD-1 (proteína de morte celular programada 1) faz parte da subfamília CD28 e atua na tolerância periférica, impedindo que os linfócitos T ataquem as células do próprio organismo. Ela está presente na superfície de monócitos, linfócitos T ativados, células dendríticas e células natural killer (NK), e se ligam aos seus ligantes PD-L1 e PD-L2 existentes nas células normais ou cancerosas. Após essa interação, ocorre uma supressão das células T, impedindo que as células imunes completem sua função, através da secreção de IFN-gama e citocinas (NEVES, 2013). Quando a ligação entre receptores-ligantes acontece com uma célula tumoral, a atividade antitumoral é inibida, fazendo com que os linfócitos T fiquem “exaustos” e o tumor escape do sistema imune, favorecendo a metástase (FIGURA 2). O primeiro anticorpo desenvolvido contra PD-1 foi o Nivolumabe, e posteriormente o Pembrolizumabe. Já no caso da proteína PD-L1, tem-se o Atezolizumabe (TEIXEIRA et al., 2019).

**Figura 2** - Mecanismo de ação do PD-1 / PD-L1 normal e sobre efeito do anticorpo anti-PD-1 / antiPD-L1.



Fonte: Teixeira et al., (2019).

### 3.4.1 Ipilimumabe

O Ipilimumabe é um anticorpo monoclonal humanizado que bloqueia a ligação do CTLA-4 como seus receptores CD80/CD86. É vendido comercialmente com o nome de Yervoy e teve sua aprovação pela *Food and Drug Administration* (FDA) em 2011 contra o melanoma avançado inoperável e metastático (MORENO, 2020). No Brasil, a Anvisa aprovou a comercialização pela Bristol-Myers Squibb Brasil em 2012 para o mesmo melanoma (ANVISA, 2012).

Quando o anti-CTLA-4 inibe a interação ligante-receptor, aumenta o número de células T efetoras que atacam as células tumorais. Além disso, esse bloqueio também diminui a função da célula T reguladora, elevando a resposta imune antitumoral. Dessa forma, o mecanismo de ação do Ipilimumab é de maneira indireta (FIALHO, 2017).

Um estudo de fase III em pacientes CPPC-EE utilizando Ipilimumabe mais quimioterapia de etoposídeo e platina ou quimioterapia de etoposídeo e platina mais placebo foi realizado em 1.132 pacientes, entre eles 954 receberam pelo menos uma dose, no qual, 478 recebeu a quimioterapia com Ipilimumabe e 476 a quimioterapia com placebo. A taxa de sobrevida global (SG) foi de 11 meses para a quimioterapia associada com o Ipilimumabe e 10,9 meses para a quimioterapia com placebo. A taxa de sobrevida livre de progressão (SLP) foi de 4,6 e 4,4 meses, respectivamente (RECK et al., 2016).

Estudos, como CheckMate 32, mostraram que a eficácia do Ipilimumabe no tratamento do CPPC é melhor combinada com o Nivolumabe. Nessa pesquisa foi feita

na fase I e foram analisados 216 pacientes com CPPC após a utilização de pelo menos uma quimioterapia à base de platina, entre os anos de 2013 e 2015. Dentre os pacientes, 98 receberam Nivolumabe 3mg/kg, três receberam Nivolumab 1mg/kg mais ipilimumabe 1mg/kg, 61 receberam Nivolumabe 1mg/kg mais Ipilimumabe 3mg/kg e 54 receberam Nivolumabe 3 mg/kg mais ipilimumabe 1mg/kg. Taxa de resposta foi 10% para Nivolumabe 3 mg/kg, 23% para Nivolumabe 1mg/kg mais ipilimumabe 3mg/kg e 19% para Nivolumab 3mg/kg mais Ipilimumabe 1mg/kg (ANTONIA, 2016).

A SG foi de 4,4 meses para Nivolumabe 3mg/kg, 7,7 meses para Nivolumabe 1mg/kg mais Ipilimumabe 3mg/kg e 6 meses para Nivolumabe 3mg/kg mais Ipilimumabe 1mg/kg. Já a SLP foi de 1,4 meses, 2,6 meses e 1,4 meses, respectivamente (ANTONIA et al., 2016). Dessa forma, foi observado que pacientes tratados com Nivolumabe 1mg/kg mais Ipilimumabe 3mg/kg tiveram melhor resposta ao tratamento.

Outra pesquisa de CheckMate 32, realizada entre 2015 e 2016, analisou 243 pacientes com CPPC, entre eles 147 receberam Nivolumabe 3mg/kg e 96 receberam Nivolumabe 1mg/kg mais Ipilimumabe 3mg/kg. Os resultados dos pacientes que foram medicados com Nivolumabe mais Ipilimumabe apresentaram taxa de resposta de 21,9%, SG e SLP de 4,7 meses e 1,5 meses, respectivamente (READY et al., 2019).

Outro estudo realizado associando Nivolumab e Ipilimumab foi realizado com 834 pacientes CPPC-EE (CheckMate 451). Destes, 265 receberam Nivolumabe mais Ipilimumabe, 261 receberam apenas Nivolumabe e 263 receberam placebo. O resultado dos pacientes que receberam a terapia combinada apresentaram taxa de resposta de 9,1%, SG de 9,2 meses e SLP de 1,7 meses (OWONIKOKO et al., 2021).

### 3.4.2 Nivolumabe

O Nivolumabe é um anticorpo monoclonal IgG4 humano com uma mutação S228P que garante estabilidade e reduz a variabilidade terapêutica. Essa mutação permite a estabilização através das pontes dissulfeto na região central-dobradora de IgG4, e isso evita a troca de regiões de ligação do fragmento Fab entre anticorpos

IgG4. É vendido comercialmente com o nome de Opdivo e teve sua aprovação pela FDA em 2014 contra o melanoma maligno metastático (MORENO, 2020). No Brasil, a Anvisa aprovou a comercialização pela Bristol-Myers Squibb Brasil em 2016 para câncer de pulmão metastático e melanoma metastático (ANVISA, 2016).

O mecanismo de ação desse fármaco ocorre quando ele se liga ao receptor PD-1 e bloqueia a ligação dele com seus ligantes PD-L1 ou PD-L2, dessa forma, as células T são potencializadas, melhorando a resposta antitumoral do organismo (FIALHO, 2017).

Segundo Ready et al. (2019) no estudo CheckMate 32 o Nivolumabe sozinho no CPPC recebeu taxa de resposta de 11,6%, SG de 5,7 meses e SLP de 1,4 meses. No estudo CheckMate 451 o Nivolumabe sozinho a taxa de resposta foi de 11,5%, SG de 10,4 meses e SLP de 1,9 meses (OWONIKOKO et al., 2021).

Além desses estudos, outros como CheckMate 331, entre 2015 e 2017, utilizou Nivolumabe (240 mg) *versus* a quimioterapia com topotecano ou amrubicina como segunda linha, após o uso de pelo menos duas quimioterapias com platina. A pesquisa ocorreu em 781 pacientes com CPPC, no qual 284 receberam Nivolumabe e 285 a quimioterapia, o Nivolumabe sozinho obteve taxa de resposta de 14%, SG de 1,4 meses e SLP de 7,5 meses. E a quimioterapia apresentou taxa de resposta de 16,5%, SG de 3,8 meses e SLP de 8,4 meses (SPIGEL et al., 2021). Após analisar os resultados foi possível observar que a quimioterapia apresenta resultados mais satisfatórios.

A empresa farmacêutica Bristol Myers Squibb suspendeu em 2020 a aprovação do Nivolumabe após consulta ao FDA. O decreto veio devido a ausência de benefício resultante dos estudos clínicos realizados para colocar o medicamento como tratamento em primeira linha (ALMEIDA, 2021).

### 3.4.3 Atezolizumabe

O Atezolizumabe é um anticorpo monoclonal IgG1 humano que apresenta uma mutação no domínio Fc para evitar a ligação com o receptor PD-1. É vendido comercialmente com o nome de Tecentriq e teve sua aprovação pela FDA em 2016 contra o carcinoma urotelial localmente avançado ou metastático (MORENO, 2020). No Brasil, a Anvisa aprovou a comercialização pelo Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos S.A em 2017 para o câncer de pulmão e urotelial (ANVISA, 2017).

O Atezolizumabe bloqueia a proteína PD-L1 expressa nas células neoplásicas, dessa forma, a inibição promovida pela interação receptor-ligante reativa a resposta imune antitumoral sem provocar citotoxicidade celular dependente de anticorpo (NAGAI, 2020).

O estudo IMpower 133 foi realizado em 403 pacientes de CPPC, que entre eles 201 receberam Atezolizumabe associado com quimioterapia de carboplatinaetoposide e 202 receberam placebo associado com quimioterapia de carboplatinaetoposide. A taxa de sobrevida foi 60,2%, SG de 12,3 meses e SLP de 5,2 meses para os pacientes que receberam o Atezolizumabe com quimioterapia. A taxa de sobrevida foi 64,4%, SG de 10,3 e SLP de 4,3 meses para os pacientes que receberam o placebo com a quimioterapia (HORN et al., 2021).

Um outro estudo realizado para comparar o Atezolizumabe (1200mg) com a quimioterapia como tratamento de segunda linha foi realizado com 73 nos pacientes com CPPC, entre eles, 49 receberam o Atezolizumabe e 24 a quimioterapia. A taxa de sobrevida foi de 2,3%, SG de 9,5 meses e SLP de 1,4 meses para os pacientes que receberam o Atezolizumabe. A taxa de sobrevida foi de 2%, SG de 8,7 meses e SLP de 4,3 meses para os pacientes que receberam quimioterapia (PUJOL et al., 2019).

O Atezolizumabe associado a quimioterapia representou melhores resultados comparados ao Atezolizumabe sozinho ou os outros anticorpos apresentados neste trabalho, evidenciando que é a melhor forma de tratamento para os pacientes com CPPC.

Embora algumas resultados do tratamento com quimioterapia analisados anteriormente sejam próximos aos valores de taxa de resposta e sobrevidas da imunoterapia com anticorpos monoclonais, não é preferível esse método de tratamento, pois a imunoterapia com anticorpos monoclonais é específica, ligando-se apenas ao alvo, a célula neoplásica de interesse. É o contrário do que ocorre na quimioterapia, que não tem especificidade e ataca todas as células do organismo, incluindo as saudáveis. Além disso, deve-se levar em consideração que os pacientes estão debilitados por causa da doença e usar uma terapia que age de maneira sistêmica agravaria esse quadro.

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O câncer é uma doença causada por diversos fatores, cujo risco de desenvolvimento pode ser reduzido ao adotar um estilo de vida mais saudável. O câncer de pulmão de pequenas células, por exemplo, é provocado principalmente pelo tabagismo e afeta grande parte da população, tornando-se uma questão de saúde

pública. Os tratamentos convencionais, como a quimioterapia e a radioterapia, não têm atendido às necessidades dos pacientes, apresentando resultados pouco eficazes. Diante disso, novas pesquisas foram realizadas com intuito de buscar a melhor forma de tratamento para CPPC.

Dessa maneira, o presente trabalho mostrou que a imunoterapia de anticorpo monoclonal é uma terapêutica eficaz, pois estimula as próprias células do sistema imune a atacar as células cancerígenas, utilizando proteínas que agem como moduladoras do *checkpoint* imunológico. Entre os anticorpos estudados, o que apresentou melhor resultado em pacientes com câncer de pulmão de pequenas células foi a de Atezolizumabe associada a quimioterapia de carboplatina-etoposide, pois apresentou taxa de resposta e sobrevida global elevadas. Estes resultados evidenciam o potencial terapêutico dos anticorpos monoclonais e contribuem para a justificativa de serem aprovados para o uso no tratamento do CPPC, ainda carente de imunoterapia. Além disso, o uso das imunoterapias é justificado por não apresentar mais danos aos pacientes, os quais já possuem a saúde comprometida.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Daniel Vargas P. de. **Aprovação de Nivolumab para o tratamento do câncer de pulmão de células pequenas é revogada nos EUA.** 2021. Disponível em: <<https://mocbrasil.com/blog/noticias/aprovacao-de-nivolumabe-para-otratamento-do-cancer-de-pulmao-de-celulas-pequenas-e-revogada-nos-eua/>>. Acesso em: 12 out. 2022.

ALMEIDA, Vera Lúcia de. et al. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Química Nova.** v. 28, n. 1, p. 118-129, 2005. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000100021>.

ANTONIA, Scott J. et al. Nivolumab alone and nivolumab plus Ipilimumab in recurrent small-cell lung cancer (CheckMate 032): a multicentre, open-label, phase ½ trial. **The Lancet.** v. 17, n. 7, p. 833-895, 2016. doi: 10.1016/S1470-2045(16)300985.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consulta de medicamentos.** 2012. Disponível em: <<https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/25351231323201157/>>. Acesso em: 4 out. 2022.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consulta de medicamentos.** 2016. Disponível em: <<https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/25351308360201510/>>. Acesso em: 4 out. 2022.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consulta de medicamentos**. 2017. Disponível em: <<https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/25351102551201639/>>. Acesso em: 4 out. 2022.

BERNHARDT, Erica B.; JALAL, Shadia I. Small cell lung cancer. **Lung Cancer, Cancer Treatment and Research**. v. 170, n. 14, p. 301-322, 2016. doi: 10.1007/978-3-319-40389-2\_14

DONG, Haidong. The Basic Concepts in Cancer Immunology and Immunotherapy. In: DONG, Haidong. MARKOVIC, Svetomir N. **The Basics of Cancer Immunotherapy**. Estados Unidos: Springer, 2018. p. 1-19.

FIALHO, Inês Isabel Batista. **Imunoterapia do melanoma metastático**. 2017. Tese (Mestrado) - Curso de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2017.

GRAHAM, Trevor A. SOTTORIVA, Andrea. Measuring cancer evolution from the genome. **The Journal of Pathology**. v. 241, n. 2, p. 183-191, 2016. doi: 10.1002/path.4821.

HAMILTON, Gerhard. RATH, Barbara. Immunotherapy for Small Cell Lung Cancer: mechanisms of resistance. **Expert Opinion on Biological Therapy**. v. 19, n. 5, p. 423-432, 2019. doi: 10.1080/14712598.2019.1592155.

HAUSMAN, Daniel M. What is cancer? **Perspective in Biology and Medicine**. v. 62, n. 4, p. 778-784, 2019. doi: 10.1353/pbm.2019.0046.

HORN, Leora. Updated overall survival and pd-11 subgroup analysis of patients with extensive-stage small-cell lung cancer treated with Atezolizumab, carboplatin, and etoposide (IMpower133). **Journal of Clinical Oncology**. v. 39, n. 6, p. 616-630, 2021. doi: 10.1200/JCO.20.01055.

IARC. Asbestos (Chrysotile, Amosite, Crocidolite, Tremolite, Actinolite, and Anthophyllite). **British Occupational Hygiene Society**. v. 34, n. 2, p. 159-175, 2015. doi: 10.1093/annhyg/34.2.159.

INAMURA, Kentaro. Lung cancer: understanding its molecular pathology and the 2015 WHO classification. **Frontiers in Oncology**. v. 7, n. 193, p. 1-7, 2017. doi: 10.3389/fonc.2017.00193

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil). **Tratamento do câncer - Quimioterapia**. Brasília, DF. Instituto Nacional do Câncer, 2022a. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/tratamento/quimioterapia>>. Acesso em: 14 set. 2022.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil). **Tratamento do câncer - Radioterapia**. Brasília, DF. Instituto Nacional do Câncer, 2022b. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/tratamento/radioterapia>>. Acesso em: 14 set. 2022.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil). **Estimativas para câncer triênio**

**2020-2022.** Brasília, DF. Instituto Nacional do Câncer, 2022c. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/canais-de-atendimento/imprensa/releases/2020/incalanca-estimativas-de-casos-novos-de-cancer-para-o-trienio-2020-2022>>. Acesso em: 14 set. 2022.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil). **Estatísticas de câncer.** Brasília, DF. Instituto Nacional do Câncer, 2021. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>>. Acesso em: 20 mar. 2022.

JORGE, Juliano José. Imunoterapia no tratamento do câncer. **Revista oficial da Associação Brasileira de Alergia e Imunologia (ASBAI)**. v. 3, n. 2, 2019. doi: 10.5935/2526-5393.20190023.

KALEMKERIAN, Gregory P. et al. Small cell lung cancer. **Journal of the National Comprehensive Cancer Network**. v. 11, n. 1, p. 78-98, 2013. doi: 10.6004/jnccn.2013.0011.

LEMJABBAR-ALAOUI, Hassan. et al. Lung cancer: biology and treatment options. **BBA - Reviews on Cancer**. v. 1856, n. 2, p. 189-210, 2015. doi: 10.1016/j.bbcan.2015.08.00.

MACEDO, Maria Juliana Pantaleão Borges de. **Estratégias e inovações aplicadas ao desenvolvimento de anticorpos monoclonais.** 2018. Tese (Trabalho de Conclusão de Curso) - Curso de Farmácia-Bioquímica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

MAO, Yousheng. et al. Epidemiology of Lung Cancer. Surgical Oncolog. **Clinics of North America**. v. 25, n. 3, p. 439-445, 2016. doi: 10.1016/j.soc.2016.02.001.

MEERBEECK, Jan P van., FENNELL, Dean A., RUYSSCHER, Dirk K M De. Small cell lung cancer. **The Lancet**. v. 378, n. 9804, p. 1741-1755, 2011. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60165-7.

MORENO, Diogo Rafael Carrega. **Imunoterapia e cancro.** 2020. Tese (Mestrato) - Curso de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2020.

NAGAI, Anna Caroline Saijo. **Análise comparativa de imunoterapias de inibição de checkpoint imunológico em pacientes com câncer de pulmão.** 2020. Tese (Trabalho de Conclusão de Curso) - Curso de Biomedicina, Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2020.

NASIM, Faria. SABATH, Bruce F. EAPEN, George A. Lung Cancer. **Medical Clinics of North America**. v. 103, n. 3, p. 463-473, 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2018.12.006>.

NEVES, Maria de Lourdes Palermo Fernandes. **Análise das células T regulatórias e expressão de moléculas coestimulatórias em células mononucleares de pacientes com Hanseníase e sua correlação com a produção de citocinas.** 2013. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

NOORELDEEN, Reen. BACH, Horacio. Current and future development in lung cancer diagnosis. **Internationan Journal of Molecular Sciences**. v. 22, n. 16, p. 118, 2021. doi: 10.3390/ijms22168661.

OWONIKOKO, Taofeek K. et al. Nivolumab and Ipilimumab as maintenance therapy in extensive-disease small-cell lung cancer: CheckMate 451. **Journal of Clinical Oncology**. v. 39, n. 12, p. 1349-1359, 2021. doi: 10.1200/JCO.20.02212.

PAUL, Prosenjit. MALAKAR, Arup Kumar. CHAKRABORTY, Supriyo. The significance of gene mutations across eight major cancer types. **Mutation Research-Reviews in Mutation Research**. v. 781, p. 88-99, 2019. doi: 10.1016/j.mrrev.2019.04.004.

PUJOL, Jean-Louis. et al. A Randomized non-comparative phase ii study of anti-programmed cell death-ligand 1 Atezolizumab or chemotherapy as second-line therapy in patients with small cell lung cancer: results from the ifct-1603 trial. **Journal of Thoracic Oncology**. v. 14, n. 5, p. 903-913, 2019. doi: 10.1016/j.jtho.2019.01.008.

READY, Neal E. et al. Nivolumab monotherapy and nivolumab plus ipilimumab in recurrent small cell lung cancer: results from the checkmate 032 randomized cohort. **Journal of Thoracic Oncology**. v. 15, n. 3, p. 426-435, 2019. doi: 10.1016/j.jtho.2019.10.004.

RECK, Martin. et al. Phase iii randomized trial of ipilimumab plus etoposide and platinum versus placebo plus etoposide and platinum in extensive-stage small-cell lung cancer. **Journal of Clinical Oncology**. v. 34, n. 31, p. 3740-3748, 2016. doi: 10.1200/JCO.2016.67.6601.

REZENDE, Alexia Santos. AMORIM, Ana Laura Ferreira de. MORAIS, Júnia Aparecida Procópio. **Aplicação de anticorpos monoclonais no tratamento do câncer**. Tese (Trabalho de Conclusão de Curso) - Curso de Biomedicina, Centro Universitário UNA, Minas Gerais, 2021.

ROPER, Nitin. et al. Notch signaling and efficacy of PD-1/PD-L1 blockade in relapsed small cell lung cancer. **Nature communications**. v. 12, n. 3880, 2021. doi: 10.1038/s41467-021-24164-y.

ROSKOSKI, R. Anaplastic lymphoma kinase (ALK) inhibitors in the treatment of ALKdriven lung cancers. **Pharmacological Research**. v. 117, p. 343-356, 2017. doi: 10.1016/j.phrs.2017.01.007.

SPIGEL, D. R. et al. Second-line nivolumab in relapsed small-cell lung cancer: CheckMate 331. **Annals of Oncology**. v. 32, n. 5, p. 631-641, 2021. doi: 10.1016/j.annonc.2021.01.071.

TEIXEIRA, Henrique Couto. et al. Proteínas de checkpoint imunológico como novo alvo da imunoterapia contra o câncer: revisão da literatura. **HU Revista**. v. 45, n. 3, p. 325-333, 2019. doi: 10.34019/1982-8047.2019.v45.28820.

TSIOUPROU, Ioanna. ZAHARIAS, Athanasios. SPYRATOS, Dionisios. The Role of Immunotherapy in Extensive Stage Small-Cell Lung Cancer. **Canadian Respiratory Journal**. v. 2019, p. 1-7, 2019. doi: 10.1155/2019/6860432.

VIEIRA, Vanessa de Souza. et al. Câncer de pulmão de não pequenas células. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**. v. 14, n. 25, p. 1512-1532, 2017. doi: 10.18677/EnciBio\_2017A126.

VIDAL, Thaís Jeronimo. FIGUEIREDO, Tatiana Aragão. PEPE, Vera Lúcia Edais. O mercado brasileiro de anticorpos monoclonais utilizados para o tratamento de câncer. **Cadernos de Saúde Pública**. v. 34, n. 12, p. 1-14, 2018. doi: 10.1590/0102311X00010918.

VINOD, Shalini K. HAU, Eric. Radiotherapy treatment for lung cancer: Current status and future directions. **Respirology**. v. 25, n. 2, p. 61-71, 2020. doi: 10.1111/resp.13870

WANGA, Li-Hui. et al. Loss of Tumor Suppressor Gene Function in Human Cancer: An Overview. **Cellular Physiology and Biochemistry**. v. 51, n. 6, p. 2647-2693, 2018. doi: 10.1159/000495956.

YANG, Sen. ZHANG, Zhe. WANG, Qiming. Emerging therapies for small cell lung cancer. **Journal of Hematology & Oncology**. v. 12, n. 47, p. 1-11, 2019. doi: 10.1186/s13045-019-0736-3.

YUAN, Ting. et al. Prognostic immunohistochemical markers for small cell lung cancer: a review. **Pathology - research and practice**. v. 217, n. 153311, p. 338344, 2021. doi: 10.1016/j.prp.2020.153311.

# INFERTILIDADE FEMININA

## FEMALE INFERTILITY

Caroline Raia de Araújo<sup>1</sup>  
Anelise Franciosi<sup>2</sup>

### RESUMO

Este trabalho baseia-se nos princípios biológicos que ocorrem no processo reprodutivo feminino, tendo como principal foco as causas de infertilidade na mulher, ou seja, a ausência de uma gravidez após doze meses de tentativas. Para a execução deste trabalho, foi realizada uma pesquisa bibliográfica detalhada através de sites governamentais, médicos, plataformas online e o Google Acadêmico. Deste modo, o objetivo principal é apresentar de que forma a infertilidade feminina pode ocorrer, e, averiguar abordagens específicas de técnicas para tratamentos que podem vir a ser utilizados, assim como técnicas para a preservação da fertilidade. Estas regulamentações são importantes para definir quais tratamentos podem ser utilizados, as modalidades de aplicações, e sempre assegurar o bem-estar das pacientes, e de todas as pessoas envolvidas. Hoje, a medida que a ciência se expande, tecnologias disponíveis continuam a evoluir, e, nos dias hoje, a FIV (fertilização in vitro) é um procedimento onde os óvulos são fecundados em laboratórios e, os embriões resultantes desta fecundação são transferidos para o útero da paciente, procedendo gestações eficientes com embriões saudáveis. Este método tem ajudado inúmeras pessoas em diferentes ocasiões, sendo elas, tanto em casais com dificuldade para engravidar, ou, em mulheres solteiras que desejam ter seus filhos.

**Palavras-chaves:** infertilidade; fertilização in vitro; dificuldade de engravidar.

### ABSTRACT

This work is based on the biological principles that occur in the female reproductive process, focusing mainly on the causes of infertility in women, that is, the absence of a pregnancy after twelve months of attempts. For the execution of this work, detailed bibliographic research was carried out through government and medical websites, online platforms and Google Scholar. In this way, the main objective is to present how female infertility can occur, and to investigate specific approaches to techniques for treatments that may be used, as well as techniques for the preservation of fertility. These regulations are important to define which treatments can be used, the application modalities, and always ensure the well-being of patients and all the people involved. Today, as science expands, available technologies continue to evolve, and nowadays, IVF (in vitro fertilization) is a procedure where eggs are fertilized in laboratories and the resulting embryos are transferred to the uterus of the patient, carrying out efficient pregnancies with healthy embryos. This method has helped

---

<sup>1</sup> Graduanda do curso de Biomedicina do Centro Universitário de Filadélfia (UniFil) - e-mail: carolraia@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Docente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil) - e-mail: anelise.franciosi@unifil.br

countless people on different occasions, both in couples with difficulty getting pregnant, or in single women who want to have their children.

**Keywords:** infertility; in vitro fertilization; difficulty getting pregnant.

## 1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde em 2020, a infertilidade é a ausência de gravidez após 12 meses de relações sexuais regulares sem proteção. Existem dois tipos de infertilidade: a infertilidade primária, quando não houve nenhuma gravidez prévia, e infertilidade secundária, quando houve uma gravidez prévia. O início da investigação da infertilidade é sinalizado através da idade, no caso de mulheres com menos de 35 anos há um prazo de 1 ano de tentativas sem o uso de métodos anticoncepcionais; em mulheres entre 35 e 39 anos deve-se aguardar 6 meses de prazo antes de procurar uma ajuda médica; e nos casos de intercorrência relacionado a processo reprodutivos ou mulheres acima de 45 anos deve-se procurar uma ajuda imediata (CORTEZZI, 2021; Embriológica; Curso de Biotecnologia da Reprodução).

A etiologia da infertilidade mostra que 35% de todos os casais inférteis tem alguma questão masculina envolvido, outros 35% tem fator feminino, 20% tem fator combinado (feminino e masculino) e cerca de 10% sem causa conhecida (ROUSSEV; COULAN, 2007; AL-MOUSHALY, 2013).

O declínio da fertilidade nas mulheres começa por volta dos 30 anos de idade, porém, fatores como insuficiência ovariana prematura, síndrome dos ovários policísticos, endometriose, infecções do trato genital, obesidade, anatômicos e ambientais podem desempenhar um papel na infertilidade feminina. Condições que afetam a fertilidade em ambos os sexos são hipogonadismo, hipogonadotrófico, hiperprolactinemia, distúrbios da função ciliar, fibrose cística, infecções, obesidade e doenças sistêmicas (BATISTA; BRETONES; ALMEIDA, 2016)

Em uma anamnese feminina o médico irá avaliar a paciente sobre tempo de infertilidade; idade; idade menarca; duração dos ciclos menstruais; dismenorreia, frequência de atividade sexual, métodos contraceptivos; número de gestação ou partos; intercorrências gestacionais; cirurgias prévias; doença inflamatória pélvica, Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST), medicações e hábitos de vida, Índice de massa corpórea (IMC), histórico familiar de doenças genéticas (CORTEZZI, 2021;

Embriológica; Curso de Biotecnologia da Reprodução).

O presente trabalho tem como objetivo geral apresentar a infertilidade feminina e o seu impacto na subjetividade das mulheres que a vivenciam. Como objetivo específico, esclarecer os fatores que levam a esta condição, buscando contribuir abordagens específicas dessas pacientes na clínica. Desfrutando de técnicas para tratamentos de infertilidade, assim como técnicas para preservação da fertilidade.

## **2 METODOLOGIA**

O trabalho foi realizado através de um levantamento bibliográfico abrangendo as variações que envolvem os processos de infertilidade com caráter explicativo e qualitativo contendo dados, conceitos e técnicas retirados de artigos científicos, teses e dissertações de bibliotecas de universidades, cursos, sites governamentais, sites médicos e plataformas online como o SciELO, PubMed, e Google Acadêmico.

## **3 DESENVOLVIMENTO**

### **3.1 FATORES BIOLÓGICOS**

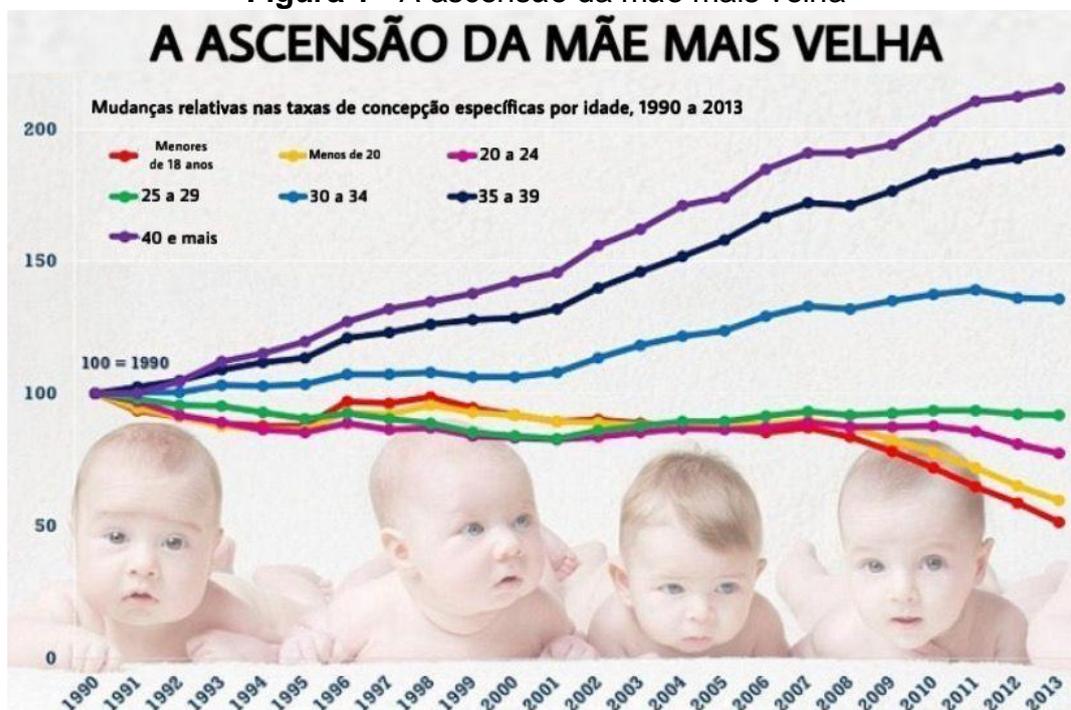
Os fatores biológicos incluem fatores intrínsecos, ou seja, fatores provenientes do próprio indivíduo, sendo eles; a idade materna, questões anatômicas como fatores ovarianos, tubários, uterinos, cervicais, endometriose e até mesmo obesidade. Ademais, inclui-se também fatores extrínsecos como hábitos diários e exposição a radiações e quimioterapia.

Idade materna: atualmente, está se tornando comum mulheres optarem por adiar a gravidez. Porém, a idade materna avançada enquadra-se como um possível fator para infertilidade. Uma vez que ocorre a diminuição da função ovariana, a redução do número de ovócitos e uma menor resposta às gonadotrofinas hipofisárias (KLEIN, 2009).

Em uma mulher de 22 anos, as chances para uma gestação por mês é 25%. Ao decorrer da idade, essa porcentagem diminui. Aos 36 anos é estimado uma taxa de 15% de chances de gestação por mês, e, aos 46 anos, essa taxa diminui para 2%. Logo, os riscos de abortos espontâneos através da idade materna são sinalizados desde os 20 anos, sendo 12% de chances, ao chegar nos 35 anos aumenta para 20%,

e, aos 40 anos tornase 40% (figura 1) (CRAWFORD; STEINER, 2015).

Figura 1 - A ascensão da mãe mais velha



Fonte: <https://www.dailymail.co.uk/health/article-2968560/Average-age-UK-mother-34-numberbabies-born-falls-seven-year-low.html>

Fator ovariano: são os ovários responsáveis por produzirem óvulos e hormônios que deixam o útero preparado para a gestação. Normalmente, pouco após o início da menstruação, o hipotálamo faz com que a hipófise libere FSH (hormônio folículo estimulante). Esse hormônio executa a liberação de um, ou às vezes dois folículos ovarianos (gestação gemelar natural) pelo ovário, que irão se romper e liberar os ovócitos entre 10 a 14 dias até a data da ovulação (CORTEZZI, 2021).

Porém, a falta de ovulação ou anovulação é a causa mais frequente de infertilidade, sendo assim, para melhor compreensão pode-se classificá-la em 3 grupos: de origem hipotalâmica (hormonal), na qual ocorre uma alteração na pulsionalidade do hormônio GnRH (hormônio liberador de gonadotrofinas) pelo hipotálamo, fazendo com que altere a secreção do FSH e do LH (hormônio luteinizante). A modificação de pulsionalidade que gera o hipogonadismo hipogonadotrófico é variável, a causa desta anovulação pode ser devida a anormalidades genéticas e desordens funcionais como estresse psicogênico, atividade física intensa, distúrbios alimentares e pseudociese (MELO; SILVA DE SÁ,

2022); de origem plurimetabólica, constituída como uma síndrome metabólica que inclui a hiperinsulinemia, hiperlipidemia, diabetes e doenças cardiovasculares (DCV).

Além dos sintomas mais conhecidos como hiperandrogenismo, hirsutismo, acne, obesidade, aspecto policístico dos ovários e o risco aumentado para adenocarcinoma de endométrio (LOBO; CARMINA, 2000; NORMAN, 2002); originado por falência ovariana precoce, essa causa é caracterizada pela falência gonadal antes dos 40 anos de idade, resultando em uma menopausa precoce. A FOP (falência ovariana precoce) pode ser separada em primária e secundária. A primária inclui danos nos ovários por autoimunidade, ou seja, pela destruição autoimune dos folículos primordiais devido a alteração no mecanismo que regula a migração das células germinativas, a proliferação mitótica das ovogônias e o início da meiose para formar os folículos primordial. Assim como, mutações genéticas, contendo monossomia, trissomia, transcrição e deleção envolvendo o cromossomo X ou os autossomos que são, em sua maioria, incompatíveis com a vida ou que podem gerar crianças com algum déficit cognitivo (IPGO, 2022).

Esses mecanismos genéticos acontecem pela redução da dosagem gênica e efeitos não específicos de cromossomos, que por fim, acabam prejudicando a meiose, diminuindo a pool de folículos primordiais, aumentando a atresia ou causando perda de maturação folicular. Os casos de FOP secundárias abrangem infecções, quimioterapias, radioterapias e ooforectomia bilateral (figura 2) (ASSUMPÇÃO, 2013).

**Figura 2 – Classificação etiológica da Falência Ovariana Prematura**

<b>DEPLEÇÃO FOLICULAR</b>
<b>Número folicular inicial deficiente</b>
Idiopática
<b>Atresia folicular acelerada</b>
<b>CAUSAS GENÉTICAS</b>
Anormalidades do cromossomo X
Síndrome de Turner
X Frágil
Doenças autossômicas
Blepharophimosis
Galactosaemia
APECD*
CDG1*
Relacionada a genes de hormônios/ receptores hormonais
FSHR*
LHR*
INIBINA
<b>ASSOCIADA A DOENÇAS AUTOIMUNES</b>
Doença de Addison
Miastenia gravis
Tireoidite de Hashimoto
Vitiligo
Artrite reumatóide
LES*
<b>CAUSAS IATROGÊNICAS</b>
Cirurgia/ irradiação pélvica
Quimioterapia
<b>ASSOCIADA A TOXINAS E AGENTES VIRAIS</b>
<b>DISFUNÇÃO FOLICULAR</b>
Idiopática
<b>DEFICIÊNCIA ENZIMÁTICA</b>
17- $\alpha$ -Hidroxilase
17-20 Desmolase
Colesterol-desmolase

**Fonte:** APECD: Poliendocrinopatia autoimune-candidíase-distrofia ectodérmica, CDG1: glicoproteína carboidrato tipo 1, FSHR: receptor do FSH, LHR: receptor do LH, LES: Lupus eritematoso sistêmico. Modificado de Anasti e cols., 1998, e Laml e cols., 2002.

Na maioria das vezes, as mulheres demoram para serem diagnosticadas com FOP. Essa doença costuma se manifestar após a puberdade com sintomas característicos de amenorréia primária; ausência de menstruação, ou amenorreia secundária; falha da menstruação (ASSUMPÇÃO, 2013).

Ao se suspeitar da anovulação, é necessário fazer um acompanhamento ovulatório da paciente, esse exame pode ser feito através do ultrassom do período pré-ovulatório até o período ovulatório. Esses resultados revelam desde o crescimento do folículo ovariano até seu rompimento no dia fértil com liberação do óvulo

(OLIVEIRA, 2019).

O tratamento pode ser feito através de medicamentos como comprimidos e injeções. Pode existir situações em que algumas mulheres podem não possuir mais óvulos, tendo que recorrer a doação dos mesmos. Sendo assim, exames sanguíneos de dosagens hormonais são necessários para avaliar a função ovariana. Exames de vídeo-laparoscopia também podem ser emitidos, pois, além de avaliar ovulações recentes e antigas, permite a realização de biópsias como retirada de fragmentos para exames, retirada de cistos, perfuração de microcistos e cauterização da cápsula ovariana (SAAB, Fator Ovariano, 2022).

Fator tubário: as tubas uterinas são duas tubas que conectam os ovários ao útero. Elas captam o óvulo, recebem os espermatozoides, fornecem condições para que ocorra a fecundação e o desenvolvimento do embrião, por fim, o conduz até o endométrio no útero. Posto isso, as tubas uterinas desempenham funções extremamente importantes para a fertilidade (CLÍNICA ORIGEN, 2022).

As anormalidades tubárias também são causas frequentes de infertilidade feminina, sendo cerca de 30% por culpa de fatores tubários. Em vista disso, quando há algum tipo de lesão nas tubas devido a doenças sexualmente transmissíveis ou algum processo infeccioso, ocorre uma alteração na permeabilidade e na função tubária. Isso faz com que a motilidade dos oócitos, zigotos e espermatozoides sejam prejudicados (CORTEZZI, 2021).

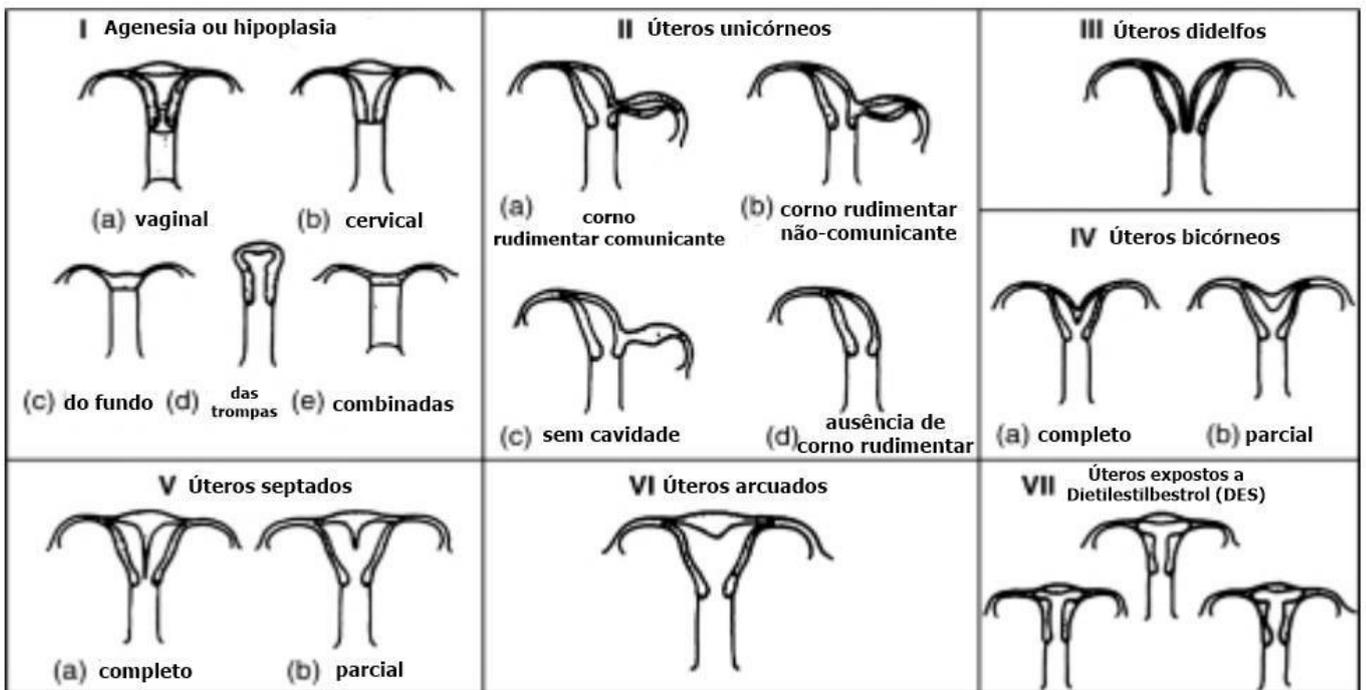
O diagnóstico é dado através da histerossalpingografia, um exame radiológico que avalia a anatomia uterina e a permeabilidade tubária. A técnica inicia-se por um líquido que é injetado pelo colo uterino, preenchendo todo o útero, passando pelas trompas e atingindo os ovários. Registrando e avaliando o trajeto livre para que o óvulo e os espermatozóides se encontrem. A vídeo-laparoscopia é um procedimento cirúrgico que pode ser utilizado para diagnóstico e tratamento de lesões tubárias em caso de infecções leves. Para infecções graves e laqueaduras, a FIV pode ser a melhor opção de tratamento para a paciente (SAAB, Fator Tubário, 2022).

Fator uterino: pouco frequente, cerca de apenas 10% infertilidade feminina é devido aos fatores uterinos. Por razão de que algumas mulheres podem nascer com defeitos uterinos que dificultam a fixação do embrião no útero, inviabilizando a gestação ou provocando abortos. Outras apresentaram miomas, adenomiose ou

pólipos (VIVITÁ, 2022).

O diagnóstico necessita de avaliação do útero, os exames para tal incluem ultrassonografia, histerossalpingografia, vídeo-laparoscopia e histeroscopia. A histeroscopia, em especial, é um exame que permite a visualização por completo, uma câmera é introduzida dentro do útero para conseguir imagens que detectam as deformidades que podem causar a infertilidade da mulher (VIVITÁ, 2022). O tratamento pode ser cirúrgico para remoção de pólipos, miomas e sinéquias. Ou medicamentos para os casos de endometrites (figura 3) (TOMIOKA, 2017).

**Figura 3 - Anomalias uterinas**

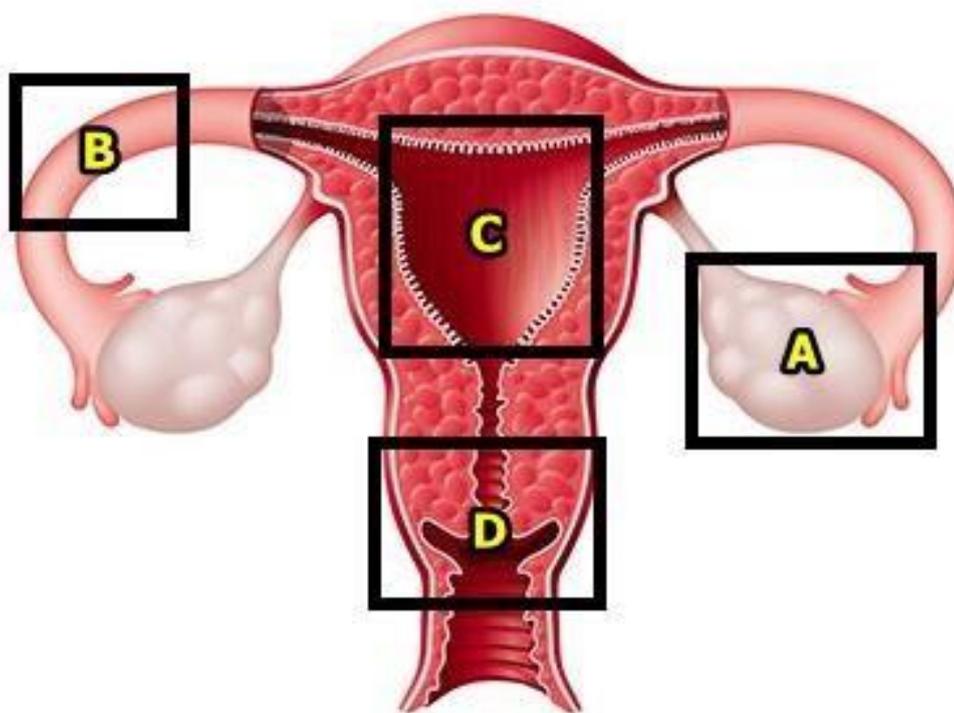


**Fonte:** American Fertility Society (Sims & Gibbons, 1996)

Fator cervical: são alterações localizadas no colo uterino que causam dificuldade na entrada dos espermatozoides para o útero. Uma vez que essa região pode sofrer agressões provocadas por acidez, infecções e anticorpos. Malformações, alterações anatômicas, neoplasias, pólipos, anormalidade na produção cervical e na interação muco-semente também podem ser encontrados nesta região e, causar quadros de infertilidade. O tratamento inclui antibióticos, hormônios e a FIV (fertilização in vitro) na qual é um procedimento onde os óvulos da paciente são fecundados em laboratórios e, os embriões resultantes desta fecundação são

transferidos para o útero a modo que ocorra gestação (figura 4) (EMBRYO, Fator cervical, 2022).

**Figura 4** – Causas e avaliações da infertilidade feminina: (A) fator ovariano; (B) fator tubário; (C) fator uterino; (D) fator cervical.



Causas de infertilidade feminina: (A) Fator ovariano; (B) Fator tubário; (C) Fator uterino; (D) Fator cervical.

Fonte: imagem autoral.

Endometriose: é um distúrbio que provoca a presença de endométrio para fora da cavidade uterina (Centro de Diagnóstico em Fertilidade, 2022). Essa doença acontece quando células endometriais conseguem migrar para o interior do abdômen através das tubas uterinas, se infiltrando em regiões próximas como os ovários, peritônio, ligamentos útero-sacro, região retrocervical, septo retovaginal, bexiga, reto, sigmoide, e outras porções do tubo digestivo provocando micro-menstruações locais (SAAB, Endometriose, 2022).

Todos os estágios de endometriose conseguem influenciar a fertilidade, isso porque influenciam os hormônios que atuam na ovulação e na implantação do

embrião. Como também alteram os hormônios de prolactina e prostaglandinas, na qual agem negativamente na fertilidade. Pode prejudicar a liberação de óvulo dos ovários em direção a trompa, ou interferir no transporte do óvulo pela trompa devido a alterações inflamatórias. O endométrio também sofre a ação de substâncias produzidas pela endometriose, como a

LIF (Fator Inibidor da Leucemia), atrapalhando a implantação do embrião. E pode provocar alterações no desenvolvimento embrionário, aumentando a taxa de abortamento (IPGO, Endometriose, 2022).

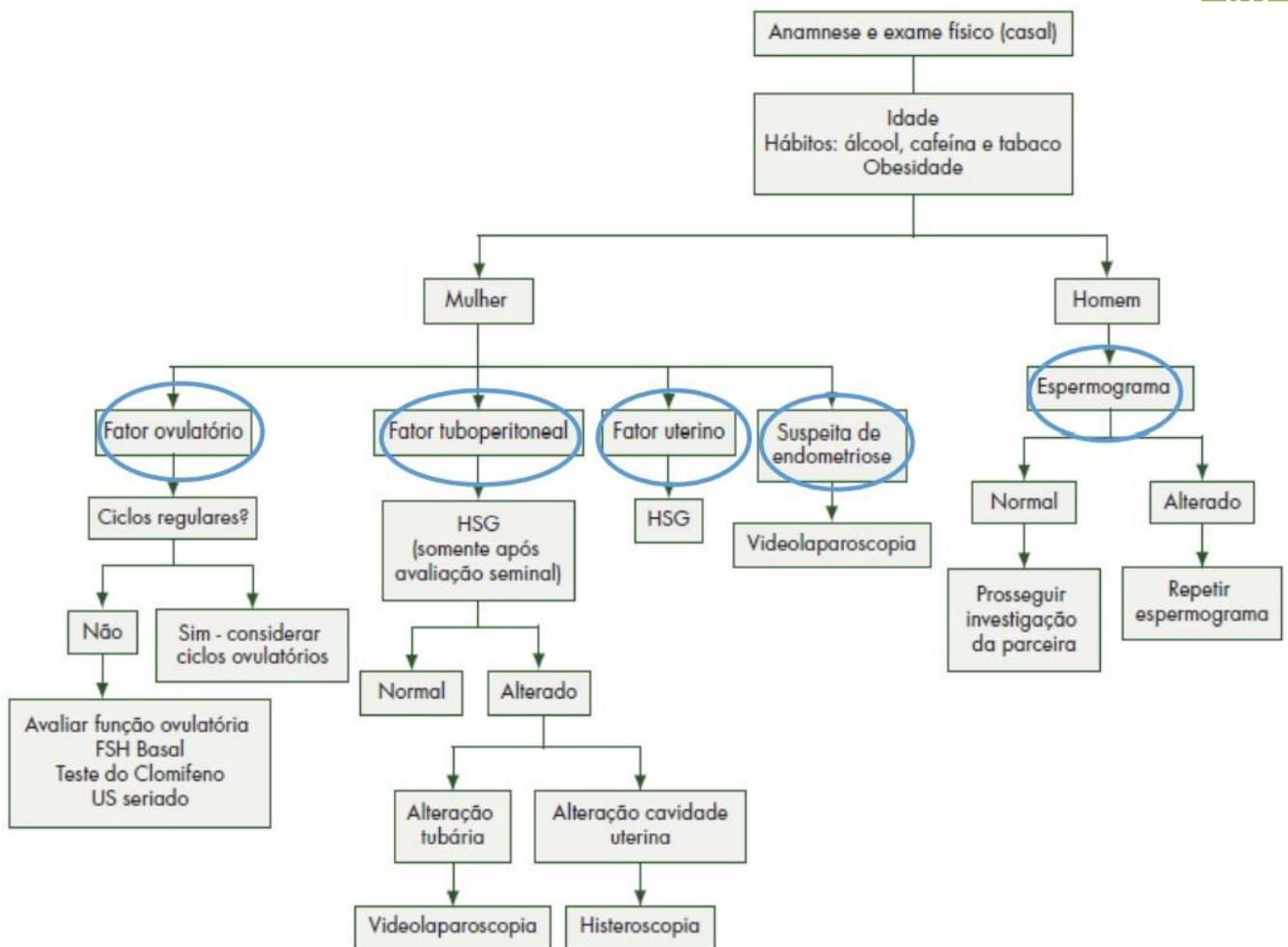
A endometriose ganhou classificações para que fosse possível procurar e identificar o grau de comprometimento dos órgãos, localizar lesões e saber a severidade da doença. Em 1979, a American Fertility Society (AFS) formou um comitê que classificou a endometriose em mínima, leve, moderada e severa. Porém, atuais avanços médicos recomendam uma nova classificação em três diferentes tipos: superficial ou peritoneal, na quais são lesões espalhadas na superfície do interior do abdômen que causam cólicas, menstruações irregulares e infertilidade. Seu diagnóstico conclusivo e o tratamento são feitos pela videolaparoscopia; endometriose ovariana, que causa a formação de cistos devido a uma retração do ovário para o interior.

O tamanho dos cistos é variável e causa alterações da anatomia destes órgãos. Seu diagnóstico é através de ultrassonografia, necessitando tratamento cirúrgico para que se evite o prejuízo da reserva ovariana, senão, junto com o tecido do cisto, poderá ser retirado também tecido ovariano com óvulos de boa qualidade podendo levar até à falência ovariana precoce; e endometriose infiltrativa sendo a mais agressiva, neste caso, a doença faz com que a migração das células endometriais alcancem uma profundidade superior a 0,5 cm e envolvem outros órgãos como os ligamentos útero-sacro (que sustentam o útero), bexiga, ureteres, septo reto-vaginal (espaço entre reto, o útero e a vagina) e intestino. Nestes últimos, formam nódulos que atingem o reto, sigmóide, órgãos genitais, vagina e algumas vezes o intestino grosso e íleo. Afetando a qualidade do bem estar da paciente (IPGO, Endometriose, 2022).

Opções de cirurgias conservadoras são incluídas para mulheres jovens ou com desejo de engravidar, entre elas estão a drenagem e ablação do cisto, exérese da pseudocápsula, punção e esvaziamento. A cirurgia excisional é uma pequena cirurgia

que elimina lesões por completo, diminuindo a recorrência do endometrioma e aumentando as chances de gestação espontânea nas pacientes com subfertilidade. Assim como estima-se que há uma melhora na resposta folicular ovariana à estimulação com citrato de clomifeno e gonadotrofinas após a realização da cirurgia excisional (ANDREA PRESTES NÁCULPOLI e MARA SPRITZER, 2010).

**Figura 5** – Mapa mental da anamnese e exame físico.



Fonte: Cortezzi (2021)

### 3.2 HÁBITOS DIÁRIOS

Tabagismo: os componentes tóxicos do tabaco influenciam durante as fases de reprodução. As combinações da nicotina e do monóxido de carbono reduzem a fertilidade por causarem diminuição precoce da reserva ovariana e diminuir o fluxo sanguíneo na tuba uterina. Conseqüentemente, dificultando a coleta do óvulo pela

tuba uterina e a movimentação ciliar tubária, aumentando as chances de uma gravidez ectópica. Por fim, a zona pelúcida do óvulo torna-se mais espessa, atrapalhando a sua fertilização (BEZERRA DE MELLO; RODRIGUES PINTO; BOTELHO, 2001).

O tabagismo crônico na gestação gera sérios problemas para o crescimento intrauterino, aumenta os riscos de prematuridade e induz à hipóxia fetal por dois caminhos independentes, porém, aditivos. O primeiro caminho se dá pelo efeito agudo da liberação de catecolaminas, através da nicotina, que resulta em hipóxia fetal episódica consequente a vasoconstrição materna e perfusão uterina reduzida. E o segundo caminho, seria através de um aumento prolongado da carboxiemoglobina fetal, resultando em uma hipoxemia fetal sustentada (BEZERRA DE MELLO; RODRIGUES PINTO; BOTELHO, 2001).

Álcool: o etilismo crônico prejudica a fertilidade feminina por afetar entre as diferentes fases do ciclo menstrual. O consumo intenso de bebidas alcoólicas durante a fase lútea e a janela ovulatória atrapalham a sequência de eventos hormonais femininos. Esse problema reduz o sucesso de tratamentos de fertilidade e aumentam as chances de aborto. O álcool é proibido para gestantes (CISA, 2022).

IMC: na obesidade, a interferência na infertilidade feminina se dá por problemas na ovulação e no endométrio, as chances para uma gestação espontânea e tentativas de reprodução assistida diminuem. Pode-se ocasionar abortos, e gerar riscos obstétricos. Essa condição pode ser revertida, os conhecimentos sobre tal relação são importantes para aumentar as chances das mulheres subférteis a terem uma gravidez saudável. Melhorias no hábito alimentar e prática de exercício físico são importantes para promover mudanças na composição corporal e no estado nutricional (FICHMAN; COSTA; MIGLIOLI; MARINHEIRO, 2020).

Baixo peso: a falta de peso pode desencadear desequilíbrios hormonais que levam a alterações de ovulações e da circulação do endométrio, resultando em amenorréia, devido a deficiência de estrogênio. Por consequência, as chances de gestação espontânea diminuem, e, caso ocorra uma gestação, o bebê poderá possuir restrições de crescimento (NAKANO, 2022).

Excesso de exercício físico: exercícios quando em alta intensidade podem alterar a função do eixo hipotálamo-hipófise-ovariano, reduzindo a secreção pulsátil do hormônio luteinizante (LH), elemento fundamental no processo de ovulação. O

predomínio de amenorreia em mulheres atletas pode chegar a 40% e a de oligomenorreia pode variar de 9 a 40% (SILVA, 2018).

Mulheres que gostam de praticar exercício físico em alta intensidade precisam receber orientações adequadas de um bom profissional. O uso de substâncias proibidas também deve ser desencorajado, pois, estes compostos são capazes de suprimir o eixo gonadal ao inibirem a secreção de hormônios importantes para fertilidade como o GnRH, LH e FSH (SILVA, 2018).

### 3.3 FATORES AMBIENTAIS

Exposição a radiações: resultante da entrada de material radioativo no organismo, a conexão com a infertilidade feminina geralmente pertence a exposição radioterápica para tratamentos oncológicos. A radioterapia pélvica, devido a sua localidade, expõe os ovários a altas doses de radiação, destruindo alguns ou até mesmo todos os óvulos da paciente. Podendo resultar em infertilidade e menopausa precoce (CASTELLOTTI; CAMBIAGHI, 2008). Esse tipo de radioterapia pode também gerar efeitos no útero, provocando alterações endometriais e cicatrizes, limitando a flexibilidade e o fluxo sanguíneo. Dessa maneira, prejudicando seu crescimento e sua expansão durante a gravidez. Esses fatores aumentam o risco de aborto e nascimentos de bebês prematuros (ONCOGUIA, 2018).

A dose de radiação necessária para causar falência ovariana precoce encontra-se nos 20 Gy, uma unidade usada para avaliar doses absorvidas de radiação (OKUNO, 2013). Estima-se que uma dose de 20Gy causa infertilidade em 22% das pacientes e acima de 35 Gy em 32% das pacientes (TOMÁS; LÓPEZ; BRAVO; METELLO; PEDRO DE SÁ; MELO, 2016). Às vezes, irradiações no cérebro pode também prejudicar a fertilidade feminina, pois, dependendo do alvo e da dose de radiação, afeta a glândula pituitária, que está diretamente relacionada à produção de hormônios pelo ovário (ONCOGUIA, 2018)

Exposição a quimioterapia: no tratamento quimioterápico, dependendo das medicações e das doses administradas, pode prejudicar a função ovariana. Quanto menor for a reserva ovariana da paciente, maior será o dano deixado pela quimioterapia. Isso porque após o término do tratamento, medicamentos podem ter

danificado os óvulos que estavam em maturação, e caso um desses óvulos seja fecundado, o embrião pode ser abortado espontaneamente ou desenvolver problemas genéticos (ONCOGUIA, 2018).

Novas técnicas têm proporcionado meios para preservar ou recuperar a fertilidade em mulheres que são submetidas a tratamentos de câncer. Entre elas estão o congelamento de embriões, uma técnica eficaz que proporciona taxas de gravidez ao redor de 40%, porém restrita a pacientes que não requerem tratamento oncológico imediato e a tumores que não são afetados por hormônios. O congelamento de tecido ovariano é usado em crianças que ainda não atingiram a puberdade e não há óvulos para serem congelados, como também em pacientes que não podem ser submetidas a indução de ovulação com hormônios. É possível também obter o congelamento de óvulos, na qual concedem bons resultados de gravidez futuras. Em casos de radioterapia, é possível utilizar a técnica de transposição dos ovários, onde é colocado os ovários por trás do útero durante o período de tratamento ou em outra localização longe do local onde será atingida pela radiação.

Dessa forma, servindo como “escudo” protetor dos ovários (IPGO, Medicamentos utilizados nos tratamentos de infertilidade, 2022).

#### **4 RESULTADOS, DISCUSSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Hoje em dia, as mulheres tendem a engravidar cada vez mais tarde, por estarem focadas nos estudos, se dedicarem à profissão ou por decidirem a ter filhos mais tarde, sendo assim, a faixa etária de gravidez se encontra entre 30 a 35 anos. Porém ao optar por adiar a gravidez, é importante ter conhecimento de que encontrará certas dificuldades para iniciar uma gestação, pois, com o passar dos anos os óvulos envelhecem, diminuindo a reserva ovariana ao passar dos anos.

Em algumas mulheres esse processo acontece mais rápido, ou porque envolve hábitos diários como o; tabagismo, que interfere tanto nas fases da reprodução como na própria gestação; o etilismo crônico, onde o consumo de bebidas alcoólicas nas diferentes fases do ciclo menstrual atrapalha as sequências hormonais femininas essenciais para fecundabilidade; obesidade ou a falta de peso, alterando a ovulação e o endométrio, ocasionando abortos; excesso de exercício físico, alterando o funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-ovariano comprometendo a fertilidade

feminina.

Ou por envolver questões biológicas como; fator ovariano, onde envolve a anovulação, podendo ser de origem hipotalâmica (hormonal), de origem plurimetabólica (ovário policístico), de uma ausência congênita ou de falência ovariana precoce; fator tubário, havendo algum tipo de lesão nas tubas, alterando a permeabilidade e a função tubária; fator uterino, contendo anomalias uterinas que inviabilizam gestação; fator cervical, local que pode sofrer agressões provocadas por acidez, infecções e anticorpos. Pode-se encontrar também malformações, alterações anatômicas, neoplasias, pólipos, anormalidade na produção cervical e na interação muco-sêmen. A mulher pode ficar exposta a radiação e a agentes oxidantes, na qual acarreta problemas para fertilidade também. Distúrbios genéticos também podem ser detectados em exames prévios de sangue antes da gravidez, como anemia falciforme, a doença de Tay-Sachs e a Fibrose Cística, além de outras desordens genéticas como inversões e translocações cromossômicas. Os riscos de doenças hereditárias devem ser avaliados e, neste caso, testes de triagem serão necessários.

Com as informações e o acompanhamento de um bom profissional, é possível usufruir de técnicas para tratamentos da infertilidade feminina, assim como técnicas para preservação da fertilidade. Entre elas estão o congelamento de embriões, tecido ovariano, óvulos e transposição dos ovários em caso de radioterapia associados às técnicas de fertilização assistida, que está cada vez mais propensa a crescer pelas pessoas como um tratamento de alta complexidade e ajuda, na qual vem a complementando famílias nos tempos atuais.

Dessa forma, pode-se concluir que, hoje em dia as mulheres tendem a engravidar cada vez mais tarde, por estarem focadas nos estudos, se dedicarem à profissão ou por decidirem a ter filhos mais tarde, sendo assim, a faixa etária de gravidez se encontra entre 30 a 35 anos. A FIV (fertilização in vitro) vem trazendo avanços e benefícios que vêm ajudando pessoas a montarem suas famílias. Geralmente a taxa de sucesso de uma FIV gira em torno de 40% a 50%, mas como toda gestação espontânea, esse número está relacionado diretamente à idade da mulher, podendo, em alguns casos superar 60%. São chances bastante superiores comparadas a taxas de concepção naturais que variam entre 18% a 20% por ciclo ovulatório. Dito isso, a FIV está cada vez mais propensa a crescer pelas pessoas como

um tratamento de alta complexidade e ajuda, na qual vem complementando famílias nos tempos atuais.

## REFERÊNCIAS

ASSUMPÇÃO, Carmen Regina Leal de. **Falência ovariana precoce**. Rio Janeiro: ., 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abem/a/g6L8Cn79RjzkL8BpD89wWpg/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 29 set. 2022.

BATISTA, Luiz Augusto Teixeira; BRETONES, Wagner Henrique Daibert; ALMEIDA, Rogério José de. **O impacto da infertilidade: narrativas de mulheres com sucessivas negativas pelo tratamento de reprodução assistida**. 3. ed. Goiânia: Elsevier, 2016. Disponível em: <https://www.elsevier.es/es-revista-reproducao-climaterio-385-articulo-oimpacto-da-infertilidade-narrativas-S1413208716300292>. Acesso em: 02 nov. 2022.

CASTELLOTTI, Daniella S.; CAMBIAGHI, Arnaldo S.. **Preservação da fertilidade em pacientes com câncer: fertility preservation for oncologic patients**. São Paulo: Revista Brasil, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/3rPFjKNYhJH83Qzt3LYCqTr/?lang=pt>. Acesso em: 29 set. 2022.

CISA. **Álcool e Fertilidade Feminina**. São Paulo:., 2022. Disponível em: <https://www.cisa.org.br/sua-saude/informativos/artigo/item/350-alcool-e-fertilidadefeminina>. Acesso em: 29 set. 2022.

COLS, Anasti e; COLS, Laml e. **Classificação etiológica da falência Ovariana Prematura**. : , 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abem/a/3twkTHYDsZFK8vSLx8GNKWg/?lang=pt#ModalFigqdr01>. Acesso em: 28 nov. 2022.

CRAWFORD, N.M.; STEINER, A.Z. **Age-related Infertility**. Elsevier Inc; 2015;42(1):15–25.

EMBRIOLÓGICA; CORTEZZI, Silvia. **Curso Novos Conceitos e Biotécnicas em Reprodução Assistida**. São Paulo: ., 2022. Disponível em: <https://embriologica.com.br/>. Acesso em: 29 set. 2022.

EMBRYO. **Fator cervical**. Curitiba: ., 2022. Disponível em: <http://www.embryo.med.br/web/causas-de-infertilidade/fator-cervical/>. Acesso em: 29 set. 2022.

FICHMAN, Valéria; COSTA, Roseli de Souza Santos da; MIGLIOLI, Teresa Cristina; MARINHEIRO, Lizanka Paola Figueiredo. **Associação entre obesidade e infertilidade anovulatória**. São Paulo:., 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/eins/a/qW48hywLLkSbPWtB65c8thk/?lang=pt>. Acesso em: 29 set. 2022.

IPGO. **ENDOMETRIOSE**. São Paulo: ., 2022. Disponível em: <https://ipgo.com.br/endometriose-completo/>. Acesso em: 29 set. 2022.

IPGO. **OS TRATAMENTOS DE FERTILIZAÇÃO EM MULHERES MADURAS**. São Paulo: ., 2022. Disponível em: <https://ipgo.com.br/os-tratamentos-de-fertilizacao-emmulheres-maduras-completo/>. Acesso em: 29 set. 2022.

IPGO. **MEDICAMENTOS UTILIZADOS NOS TRATAMENTOS DE INFERTILIDADE**. São Paulo: ., 2019. Disponível em: <https://ipgo.com.br/medicamentos-utilizados-nostratamentos-de-infertilidade-2/>. Acesso em: 29 set. 2022.

KLEIN, Nancy A.. **PREVENTION OF INFERTILITY SOURCE DOCUMENT: the impact of age on female fertility**. : Asrm: American Society For Reproductive Medicine, 2009. Disponível em: [https://www.asrm.org/globalassets/asrm/asrm-content/learning-resources/patient-resources/protect-your-fertility3/age\\_femaleinfertility.pdf](https://www.asrm.org/globalassets/asrm/asrm-content/learning-resources/patient-resources/protect-your-fertility3/age_femaleinfertility.pdf). Acesso em: 02 nov. 2022.

MELO, Anderson Sanches de; SÁ, Marcos Felipe Silva de. **ANOVULAÇÃO CRÔNICA HIPOTALÂMICA**.., 2022. Disponível em: [https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4486953/mod\\_page/content/4/Anovula%C3%A7%C3%A3o%20Hipotal%C3%A2mica.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4486953/mod_page/content/4/Anovula%C3%A7%C3%A3o%20Hipotal%C3%A2mica.pdf). Acesso em: 29 set. 2022.

MELLO, Paulo Roberto Bezerra de; PINTO, Gilberto Rodrigues; BOTELHO, Clovis. **Influência do tabagismo na fertilidade, gestação e lactação**. Rio Janeiro: ., 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jped/a/wqzG3SxfsdjY9GdLzCHg9Dj/?lang=pt>. Acesso em: 29 set. 2022.

MELLO, Paulo Roberto Bezerra de; PINTO, Gilberto Rodrigues; BOTELHO, Clovis. **Influência do tabagismo na fertilidade, gestação e lactação: the influence of smoking on fertility, pregnancy and lactation**. Rio Janeiro: Jornal de Pediatria, 2001.

NÁCUL, Andrea Prestes; SPRITZER, Poli Mara. **Aspectos atuais do diagnóstico e tratamento da endometriose**. Rio Janeiro: Revista Brasil, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbgo/a/8CN65yYx6sNVhJTbNQMrB5K/?lang=pt#:~:text=A%20abordagem%20terap%C3%AAutica%20da%20endometriose,ou%20a%20associa%C3%A7%C3%A3o%20de%20ambas>. Acesso em: 29 set. 2022.

NAKANO, Fabiana. **Excesso ou falta de peso interferem na fertilidade**. Campinas: ., 2022. Disponível em: <http://www.medreprodutiva.com.br/noticias/excesso-ou-falta-depeso-interferem-nafertilidade/#:~:text=quer%20ter%20filhos.-,Pesquisas%20revelam%20que%20as%20pacientes%20abaixo%20do%20peso%20levam%20duas,20%25%20das%20mulheres%20fisicamente%20ativas>. Acesso em: 29 set. 2022.

OLIVEIRA, Flávio Garcia de. **Infertilidade e suas causas: O Fator Ovariano**. São Paulo: ., 2019. Disponível em: <https://clinicafgo.com.br/noticias/infertilidade-e-suascausas-o-fator-ovariano/>. Acesso em: 29 set. 2022.

ONCOGUIA, Equipe. **Tratamentos para o câncer que podem afetar a fertilidade feminina**. : ., 2018. Disponível em:

<http://www.oncoguia.org.br/conteudo/tratamentospara-o-cancer-que-podem-afetar-a-fertilidadefeminina/10102/65/#:~:text=A%20qu%C3%ADmio%20pode%20prejudicar%20o,%C3%B3vulos%20que%20estavam%20em%20matura%C3%A7%C3%A3o.> Acesso em: 29 set. 2022.

OKUNO, Emico. **Efeitos biológicos das radiações ionizantes. Acidente radiológico de Goiânia**. São Paulo: ., 2013. Disponível em:

[https://www.scielo.br/j/ea/a/xzD9DgV8GPFtHkxkfbQsn4f/?format=pdf&lang=pt.](https://www.scielo.br/j/ea/a/xzD9DgV8GPFtHkxkfbQsn4f/?format=pdf&lang=pt) Acesso em: 29 set. 2022.

ORIGEN. **Tubas uterinas: o que são e qual sua função na fertilidade?** Belo Horizonte: ., 2022. Disponível em: <https://origen.com.br/tubas-uterinas-o-que-sao-e-qualsua-funcao-nafertilidade/#:~:text=As%20tubas%20uterinas%20fazem%20parte,gravidez%20aconte%C3%A7a%20de%20forma%20espont%C3%A2nea>. Acesso em: 29 set. 2022.

SAAB, Centro de Fertilidade. **Causas da Infertilidade**. Curitiba – Pr: ., 2022.

Disponível em: <https://centrodefertilidade.com.br/causas-da-infertilidade/>. Acesso em: 29 set. 2022.

SAAB. **Endometriose**. Curitiba – Pr:., 2022. Disponível em:

<https://centrodefertilidade.com.br/causas-da-infertilidade/endometriose/>. Acesso em: 29 set. 2022.

SAAB. **Fator Ovariano**. Curitiba – Pr:., 2022. Disponível em:

<https://centrodefertilidade.com.br/causas-da-infertilidade/fator-ovariano/>. Acesso em: 29 set. 2022.

SAAB. **Fator Tubário**. Curitiba – Pr:., 2022. Disponível em:

<https://centrodefertilidade.com.br/causas-da-infertilidade/fator-tubario/>. Acesso em: 29 set. 2022.

SILVA, Lucia Henriques Alves da. **Saiba quais são os efeitos dos exercícios na fertilidade feminina**. Rio Janeiro: ., 2018. Disponível em:

<https://pebmed.com.br/saibaquais-sao-os-efeitos-dos-exercicios-na-fertilidade-feminina/>. Acesso em: 29 set. 2022.

SOCIETY, American Fertility. **Classificação de anomalias uterinas**. : ., 1996.

Disponível em:

<https://sites.google.com/site/gynonet/updates/histerectomiavaginalemuterodidelfoevaginas%20eptada%E2%80%9393igufjrj>. Acesso em: 28 nov. 2022.

TOMÁS, Claudia; LÓPEZ, Berta; BRAVO, Iris; METELLO, José Luis; MELO, Pedro Sá e. **Preservação da fertilidade em doentes oncológicos ou sob terapêutica gonadotóxica: estado da arte**: fertility preservation in oncologic patients or

undergoing gonadotoxic therapies: state of art. : ., 2016. Disponível em:

<https://www.elsevier.es/esrevista-reproducao-climaterio-385-articulo-preservacao-da->

fertilidade-em-doentesS1413208715000631. Acesso em: 29 set. 2022.

TOMIOKA, Renato Bussadori. **Conheça os Tratamentos e Procedimentos para Pólipo Uterino**. São Paulo: ., 2022. Disponível em: <https://vidabemvinda.com.br/qual-otratarmento-e-procedimentos-ideais-para-quem-tem-polipo-uterino/>. Acesso em: 29 set. 2022.

VIVITÁ. **Fator uterino**. Rio Grande do Sul - Rs:., 2022. Disponível em: <https://www.vivita.com.br/infertilidade/fator-uterino>. Acesso em: 29 set. 2022.

# TDAH: ALTERAÇÕES NEUROLÓGICAS E O USO DO FÁRMACO METILFENIDATO

## ADHD: NEUROLOGICAL ALTERATIONS AND THE USE OF THE DRUG METHYLPHENIDATE

Hiram Kohata Aquino<sup>1</sup>  
Mariana Stinglin Rosa Ribas<sup>2</sup>

621

### RESUMO

O Transtorno do Déficit de Atenção com Hiperatividade (TDAH) é um transtorno neurobiológico de causas genéticas, que aparece na infância e frequentemente acompanha o indivíduo por toda a sua vida. Quando diagnosticado corretamente, na infância o portador pode se beneficiar dos efeitos positivos do fármaco metilfenidato. O medicamento Metilfenidato teve sua comercialização a partir do ano 1950 e desde então se tornou um medicamento de escolha primordial para o tratamento do Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH), comercializado no Brasil com o nome de Ritalina. O Metilfenidato é um estimulante classificado como leve que age no sistema nervoso central, estruturalmente relacionado com as anfetaminas; ele é um potente inibidor da recaptção da dopamina e da noradrenalina, que são neurotransmissores responsáveis pela excitação do sistema nervoso central. O medicamento aumenta a concentração desses neurotransmissores na fenda sináptica deixando rastros tóxicos em indivíduos que não possuem diferenças estruturais no funcionamento do sistema de retroalimentação. Para a indústria farmacêutica o cenário é outro, uma vez que tal situação se traduz em aumento das vendas. A Ritalina adquirida de forma ilegal tem sido usada de maneira indiscriminada na sociedade, quase sempre com intuito de melhorar o desempenho cognitivo, uma vez que a droga age como estimulante do sistema nervoso central. O objetivo com este trabalho é realizar um levantamento de artigos a fim de discutir a respeito do uso desse medicamento por portadores e não portadores do transtorno, e elucidar sobre as consequências neuronais causadas pelo fármaco Metilfenidato.

**Palavras-chave:** ritalina; overtreatment; TDAH; metilfenidato.

### ABSTRACT

Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) is a neurobiological disorder of genetic causes, which appears in childhood and often accompanies the individual throughout his life. When correctly diagnosed, in childhood the bearer can benefit from the positive effects of the drug methylphenidate. Methylphenidate was commercialized in the 1950s and since then has become a primary drug of choice for the treatment of Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD), marketed in Brazil under the name of Ritalin.

<sup>1</sup> Discente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). Email: hiram.kohata@gmail.com

<sup>2</sup> Docente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). Email: mariana.rosa@unifil.br

Methylphenidate is a stimulant classified as mild that acts on the central nervous system, structurally related to amphetamines; it is a potent inhibitor of the reuptake of dopamine and noradrenaline, which are neurotransmitters responsible for the excitation of the central nervous system. The drug increases the concentration of these neurotransmitters in the synaptic cleft, leaving toxic traces in individuals who do not have structural differences in the functioning of the feedback system. For the pharmaceutical industry, the scenario is different, since this situation translates into increased sales. Ritalin acquired illegally has been used indiscriminately in society, almost always with the aim of improving cognitive performance, since the drug acts as a stimulant of the central nervous system. The objective of this work is to carry out a survey of articles in order to discuss the use of this drug by people with and without the disorder, and to elucidate the neuronal consequences caused by the drug Methylphenidate.

**Keywords:** ritalin; overtreatment; ADHD; methylphenidate.

## 1 INTRODUÇÃO

O Transtorno do Déficit de Atenção com Hiperatividade (TDAH) é um dos distúrbios do neurodesenvolvimento mais frequentes entre as crianças, com persistência de sintomas em até 60% após a vida adulta. Caracterizado pela tríade sintomatológica: falta de atenção, hiperatividade e impulsividade, com o enfoque na desatenção (LOPEZ et al, 2020). Como na maioria dos relatos literários a fase de maior diagnóstico do TDAH está na infância porém isto não significa que em adultos este quadro não possa ser observado. Os adultos acabam por criar mecanismos para trabalhar com a falta de atenção, como se isolar de distrações, conhecer os horários mais produtivos, e focar a atenção no que precisa ser feito (APA, 2014; CASTRO et al., 2018; ILARIO et al., 2019). O diagnóstico do TDAH é realizado exclusivamente por um médico psiquiatra se baseia na história clínica do paciente, a qual é coletada não apenas com os pais, mas também com familiares, professores e cuidadores, visando uma maior gama de comportamentos e ambientes que a criança pode demonstrar sintomas. (ANDRADE et al., 2011).

A fisiopatologia do TDAH está diretamente relacionada as catecolaminas, como dopamina e noradrenalina. De acordo com Couto et al. (2010) ocorre uma disfunção dopaminérgica principalmente na área frontal, regiões subcorticais (estriado, tálamo médio dorsal) e o sistema límbico). O metilfenidato age no sistema nervoso central inibindo a recaptação de dopamina - neurotransmissor responsável pelo controle motor, e de noradrenalina - neurotransmissor responsável pela excitação física,

mental e de bom humor. Neste caso o fármaco impede que as catecolaminas sejam recapturadas pelas terminações nervosas, assim os neurotransmissores permanecem ativos por mais tempo no espaço sináptico dando ao indivíduo um aumento da concentração, coordenação motora e excitação (GUYTON, 2011).

Em relação ao tratamento farmacológico, a droga Metilfenidato, mais utilizado com o nome comercialmente como Ritalina, é utilizada como principal meio de tratamento do TDAH Caracterizada como psicofármaco mais utilizado na Psiquiatria infantil atuando como estimulante do sistema nervoso central. Sua principal função no SNC está relacionada à concentração e ao desempenho de atividades, diminuindo a fadiga. (SHIRAKAWA et al, 2012).

## **2 METODOLOGIA**

O desdobramento deste trabalho foi concretizado através de uma revisão literária, de cunho descritivo e reflexivo, a partir de levantamentos bibliográficos, tendo como base diferentes autores no período de 2007 a 2022. Com o uso dos descritores individuais e combinados: transtorno do déficit de atenção com hiperatividade (TDAH), tratamento TDAH, metilfenidato e Overtreatment, buscando evidenciar os efeitos neuronais que envolvem o TDHA bem como o fármaco metilfenidato no sistema nervoso central. O levantamento dos materiais foi realizado através de sites de bases de dados científicos, como Google Acadêmico, Scientific Electronic Library Online (SCIELO), National Library of Medicine National Institutes of Health (PUBMED). Foram adotados como critérios de exclusão, artigos não relacionados ao tema e publicações que não estiverem nos idiomas português e inglês.

## **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **3.1 TRANSTORNO DO DÉFICIT DE ATENÇÃO COM HIPERATIVIDADE**

O Transtorno do Déficit de Atenção com Hiperatividade (TDAH) é um dos distúrbios do neurodesenvolvimento mais frequentes entre as crianças, com persistência de sintomas em até 60% após a vida adulta. Caracterizado pela tríade sintomatológica: falta de atenção, hiperatividade e impulsividade, com o enfoque

desatenção (LOPEZ et al., 2020).

As crianças na fase escolar de 6 a 12 anos normalmente apresentam como inquietas, apresentando movimentação constante em qualquer ambiente, gostam de observar e mexer em diferentes objetos. Manifestam a dificuldade de foco em atividades rotineiras ou nas quais não tem interesse. Podem se distrair com movimentos externos ou com a movimentação das pessoas em sua volta e acabam se perdendo em seus próprios pensamentos. Porém em atividades que lhes oferecem recompensas como esportes ou videogames, o paciente de TDAH, acabam participando com maior efetividade e motivação (ABDA, 2017).

Com relação direta aos tipos de gêneros os meninos por se apresentarem na maioria das vezes mais ativos que as meninas, principalmente nas atividades físicas, tendem a ser duas vezes mais diagnosticados em relação as meninas. Este fato levou a subnotificação e diagnóstico de meninas e conseqüentemente o seu tratamento médico deficitário. Segundo Burns et al. (2017) a prevalência deste distúrbio corresponde entre 0,9 a 17,9% na população geral brasileira, sendo mais recorrente em crianças e adolescentes, com predominância na faixa etária dos 6 aos 12 anos de idade e no sexo masculino, na proporção menina/menino de 1:2,4 (ANDRADE et al., 2011; BURNS et al., 2017).

Como na maioria dos relatos literários a fase de maior diagnóstico do TDAH se dá na infância, porém isto não significa que em adultos este quadro não possa ser observado. Os adultos acabam por criar mecanismos para trabalhar com a falta de atenção, como se isolar de distrações, conhecer os horários mais produtivos, e focar a atenção no que precisa ser feito (APA, 2014; CASTRO et al., 2018; ILARIO et al., 2019)

Segundo à Associação Brasileira de Déficit de Atenção (ABDA) 2017 para se fazer o diagnóstico de TDAH em adultos é obrigatório demonstrar que o transtorno esteve presente desde criança. Atualmente acredita-se que em torno de 60% das crianças com TDAH ingressarão na vida adulta com alguns dos sintomas (tanto de desatenção quanto de hiperatividade-impulsividade). Esses transtornos compreendem, humor, ansiedade, neurodesenvolvimento, personalidade, principalmente, transtorno de personalidade borderline e antissocial.

Os adultos com TDAH costumam ter dificuldade de organizar e planejar suas

atividades do dia a dia, principalmente se forem objetivos de médio a longo prazo. Em consequência disso quem tem TDAH pode se ver sempre muito sobrecarregado, pois não sabe por onde começar e tem medo de não conseguir dar conta de tudo, principalmente quando são muitas, e o tempo todo precisa ser lembrado pelos outros sobre o que tem para fazer. A persistência nas tarefas também pode ser difícil para o portador de TDAH, que frequentemente acaba deixando as tarefas incompletas (FIGUEIREDO et al., 2010).

### 3.2 DIAGNOSTICO TRANSTORNO DO DÉFICIT DE ATENÇÃO COM HIPERATIVIDADE

Segundo BURNS et al. (2017) os pacientes com TDAH, obtiveram um diagnóstico efetivo com descrição do quadro deste transtorno nos últimos 50 anos bem como outras síndromes psiquiátricas. Cita ainda que sua primeira descrição moderna está descrita no Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-II; segunda edição) como uma doença infantilizada. Já no diagnóstico atual sua inclusão no DSM-5, consta como uma condição do neurodesenvolvimento ao longo da vida com critérios específicos para crianças e adultos, mudança que traz mais importância e relevância para o transtorno” (BURNS et al., 2017).

O diagnóstico do TDAH é realizado exclusivamente por um médico psiquiatra se baseia na história clínica do paciente, a qual é coletada não apenas com os pais, mas também com familiares, professores e cuidadores, visando uma maior gama de comportamentos e ambientes que a criança pode demonstrar sintomas. (ANDRADE et al., 2011).

Para o diagnóstico clínico, um dos métodos mais efetivos empregado é o módulo de TDAH do questionário K-SADS (Figura 1). Sendo realizado na entrevista diagnóstica semiestruturada baseada nos critérios do livro DSM-V sendo capaz de diagnosticar e classificar em níveis o transtorno. De fundamental importância para o acompanhando a evolução do paciente, aplicado ao longo da vida (SARKIS SM et al., 2005).

**Figura 1** - Questionário K-SADS, roteiro diagnóstico semiestruturada baseada nos critérios do DSM-V e para o diagnóstico de distúrbios psiquiátricos infantis. Avaliando com base em perguntas que caracterizam os sintomas aparentes, e a frequência em que aparecem.

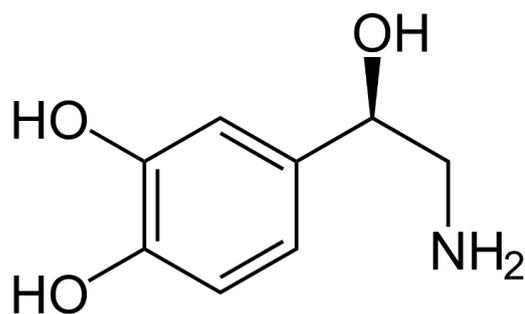
NOME:				
SÉRIE:		IDADE:		
OBS.: para cada item, escolha a coluna que melhor descreve o(a) aluno(a) e marque um X				
QUESTÕES	RESPOSTAS			
	Nem um pouco	Só um pouco	Bastante	Demais
1 – Não consegue prestar muita atenção a detalhes ou comete erros por descuido nos trabalhos da escola ou tarefas.				
2 – Tem dificuldade para manter a atenção em tarefas ou atividades de lazer.				
3 – Parece não estar ouvindo quando se fala diretamente com ele.				
4 – Não segue instruções até o fim e não termina deveres de escola, tarefas e obrigações.				
5 – Tem dificuldade para organizar tarefas e atividades.				
6 – Evita, não gosta ou se envolve contra a vontade em tarefas que exigem esforço mental prolongado.				
7 – Perde coisas necessárias para atividades (por exemplo, brinquedos, deveres da escola, lápis ou livros)				
8 – Distrai-se com estímulos externos.				
9 – É esquecido em atividades do dia a dia.				
10 – Mexe com as mãos ou os pés ou se remexe na cadeira.				
11 – Sai do lugar na sala de aula ou em outras situações em que se espera que fique sentado.				
12 – Corre de um lado para outro ou sobe nas mobílias em situações em que isso é inapropriado.				
13 – Tem dificuldade para brincar ou envolver-se em atividades de lazer de forma calma.				
14 – Não para ou costuma estar a "mil por hora".				
15 – Fala em excesso.				
16 – Responde às perguntas de forma precipitada antes que elas tenham sido terminadas.				
17 – Tem dificuldade para esperar sua vez.				
18 – Interrompe ou outros ou se intromete (por exemplo, intromete-se em conversas/jogos)				
<b>COMO AVALIAR 1:</b> havendo pelo menos 6 itens marcados como "BASTANTE" ou "DEMAIS" de 1 a 9 = existem mais sintomas de desatenção que o esperado numa criança ou adolescente.				
<b>COMO AVALIAR 2:</b> havendo pelo menos 6 itens marcados como "BASTANTE" ou "DEMAIS" de 10 a 18 = existem mais sintomas de hiperatividade e impulsividade que o esperado numa criança ou adolescente.				

**Fonte:** Bordini *et al.* (2010 apud MATTOS *et al.*, 2005).

### 3.3 NEUROFISIOLOGIA DO SISTEMA DOPAMINÉRGICO

A dopamina (DA) (Figura 2) é um neurotransmissor da classe das catecolaminas, onde também são agrupadas a epinefrina (EPI) e a norepinefrina (NE). A estrutura básica das catecolaminas consiste em um catecol ligado a um grupo amina por uma ponte etil (SIEGEL *et al.*, 2015).

**Figura 2** - Estrutura química da dopamina principal catecolamina envolvida no TDHA.



Fonte: Siegel et al. (2015)

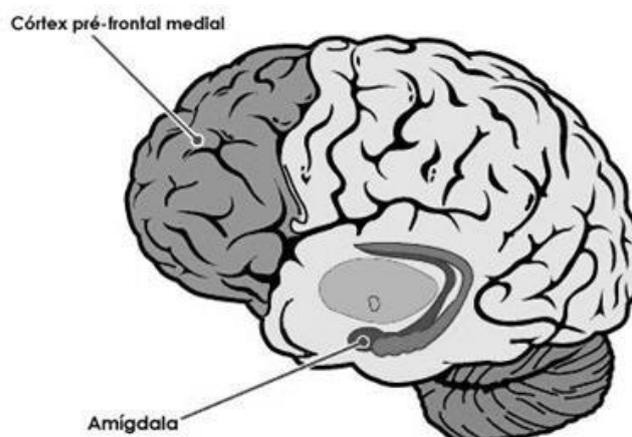
Através da modulação da neurotransmissão no sistema nervoso central (SNC), a dopamina acaba por afetar processos complexos, como emoção, atenção e humor. Zhu et al. (2017) correlaciona o TDAH com o sistema nervoso central, principalmente no que diz respeito ao funcionamento do sistema dopaminérgico, considerando a forte relação do neurotransmissor dopamina no controle emocional e motor.

### 3.4 A NEUROBIOLOGIA DO TDAH

A fisiopatologia do TDAH está diretamente relacionada as catecolaminas, como dopamina e noradrenalina. De acordo com Couto et al. (2010) ocorre uma disfunção dopaminérgica principalmente na área frontal (pré-frontal, frontal motora, giro do cíngulo), regiões subcorticais (estriado, tálamo médio dorsal) e o sistema límbico.

As insuficiências desses neurotransmissores no córtex pré-frontal e amígdala (figura 3), é responsável pelos principais sintomas.

**Figura 3** - Principais áreas cerebrais afetadas em pacientes com transtornos de Déficit atenção/hiperatividade (TDAH).

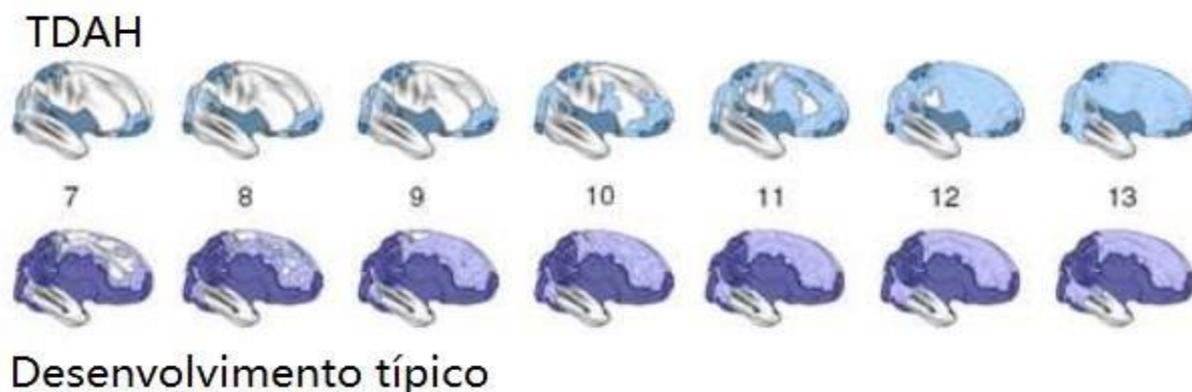


Fonte: Couto et al. (2010).

Segundo Sadock et al. (2017), a participação da noradrenalina está diretamente relacionada ao sistema central (locus ceruleus) e ao sistema periférico (simpático). Uma disfunção gerada com o acúmulo periférico de adrenalina na fenda sináptica. Levando a retroalimentação negativa do locus ceruleus, diminuindo sua atividade. Esses contribuíram com os desajustes da transtorno e são responsáveis pelos principais sintomas dessa patologia. Pode-se ainda afirmar que a anatomia do SNC do paciente de TDAH apresentam evidentes alterações estruturais (Figura 4) das regiões frontais cerebrais resultando na impulsividade do paciente.

De acordo com a Figura 4 quando comparadas as anatomias, desenvolvimento típico (controles saudáveis), como o TDAH ocorre um atraso significativo no desenvolvimento do SNC em crianças e adolescentes (7 a 13 anos). Através de exames de imagens conseguiu observar que as áreas corticais são imaturas em crianças de TDAH em relação as crianças sem o transtorno da mesma idade. Levando a diferença de maturidade entre os grupos de TDAH e controle de pelo menos dois anos de atraso do desenvolvimento. Enquanto o córtex pré-frontal lateral foi a região na qual se observou o maior atraso no desenvolvimento, na região do córtex motor primário as crianças com TDAH a maturação aconteceu antes que os sujeitos do grupo controle, segundo estudo de Shaw et al. (2007). A maturação do cérebro, que se reflete na idade em que uma região do córtex atinge espessura máxima, no TDAH (acima) e desenvolvimento típico (abaixo).

**Figura 4** - Análise por imagem de ressonância para comparação da maturação cerebral cronológica em pacientes com TDAH e desenvolvimento típico.



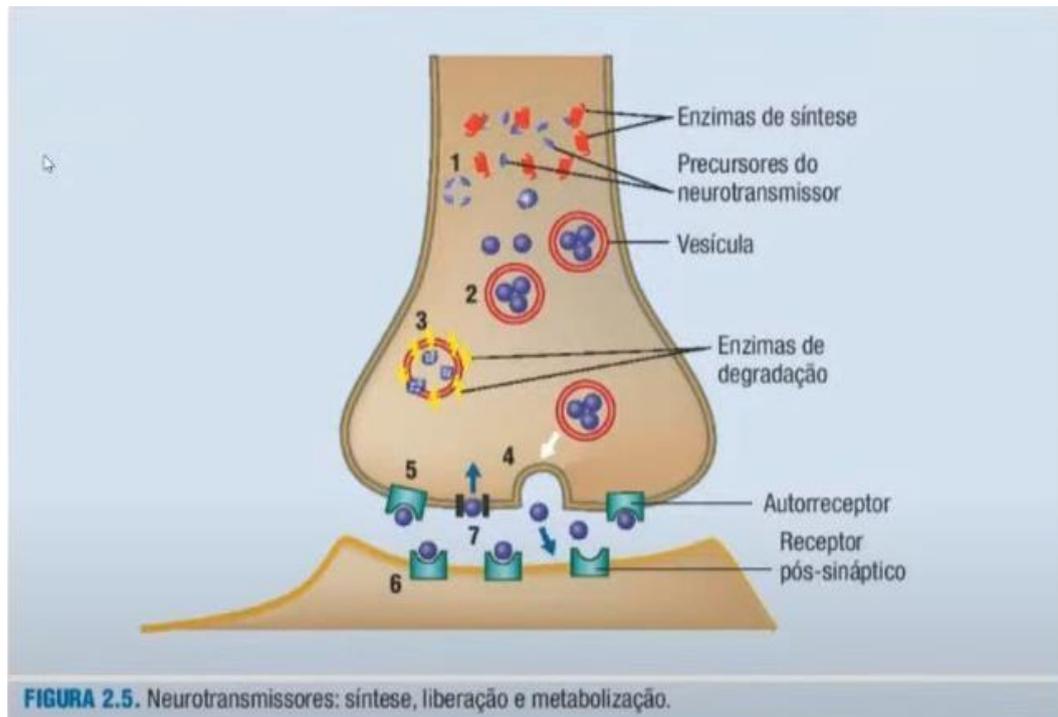
Fonte: adaptado de SHAW et al., 2007

A literatura nos demonstra que maioria dos genes específicos envolvidos no transtorno codifica sistemas de sinais de catecolaminas e incluem o transportador de dopamina (DAT), transportador de noradrenalina (NET), receptores dopaminérgicos D4 e D5, dopamina b-hidroxilase e a proteína-25 (SNAP-25) que facilitam a liberação dos neurotransmissores na fenda sináptica. (COUTO et al., 2010.)

Segundo Pinel et al (2007) além do GABA, serotonina, glutamato podem ter alterações em pelo menos um dos sete processos da sinapse que são (Figura 5):

- (1) Fabricação dos precursores do neurotransmissor pelas enzimas de síntese;
- (2) Armazenagem na vesícula;
- (3) Impulso ou sinal elétrico degradando a vesícula de armazenagem;
- (4) Os neurotransmissores são atraídos para a periferia até serem liberados na fenda sináptica;
- (5) Se ligam a um receptor específico, sendo um receptor pré-sináptico;
- (6) Pós-sináptico, mas depois esse neurônio precisa ser desativado em algum momento, então ocorre a devolução;
- (7) Retroalimentação.

**Figura 5** - Modificações observadas na fisiologia neuronal da fenda sináptica das catecolaminas envolvidas no TDAH.



**Fonte:** adaptado e traduzido Pinel et al., (2007).

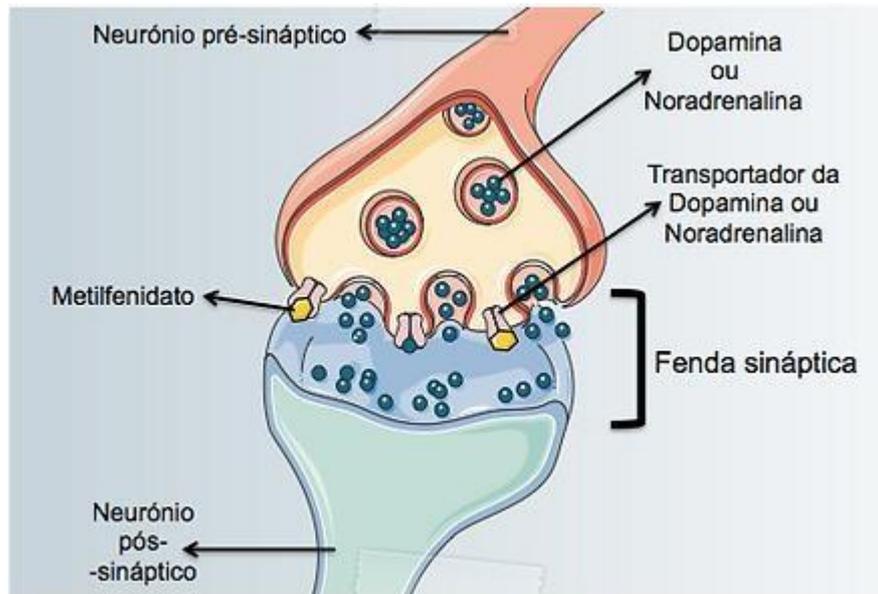
### 3.5 TRATAMENTO TRANSTORNO DO DÉFICIT DE ATENÇÃO COM HIPERATIVIDADE

O cloridrato de metilfenidato é o medicamento de uso clínico rotineiro no diagnóstico de TDAH. Sintetizado pelo químico Leandro Panizzon, ficou conhecido comercialmente como

Ritalina, pois era usado pela tenista Margueritte Panizzon, esposa do químico. (BRANT et al., 2012). Ao término da sua pesquisa e a aprovação da molécula no mercado farmacêutico, o Metilfenidato, foi avaliado o efeito estimulante do fármaco (BRANT et al., 2012, BRZOZOWSKI; DIEHL, 2013).

O metilfenidato como a anfetamina usada no tratamento, aumenta a atividade do centro de recompensa do cérebro, com mais neurotransmissores como a dopamina. (Figura 6). (BRZOZOWSKI; DIEHL, 2013).

**Figura 06** - Sinapses e o mecanismo de ação do metilfenidato.



**Fonte:** <https://sofiasoso251.wixsite.com/ffup-ritalina/sobre-1-c1yyk>

O metilfenidato age no sistema nervoso central inibindo a recaptação de dopamina - neurotransmissor responsável pelo controle motor, e de noradrenalina - neurotransmissor responsável pela excitação física, mental e de bom humor. Neste caso o fármaco impede que as catecolaminas sejam recapturadas pelas terminações nervosas, assim os neurotransmissores permanecem ativos por mais tempo no espaço sináptico dando ao indivíduo um aumento da concentração, coordenação motora e excitação (GUYTON, 2011)

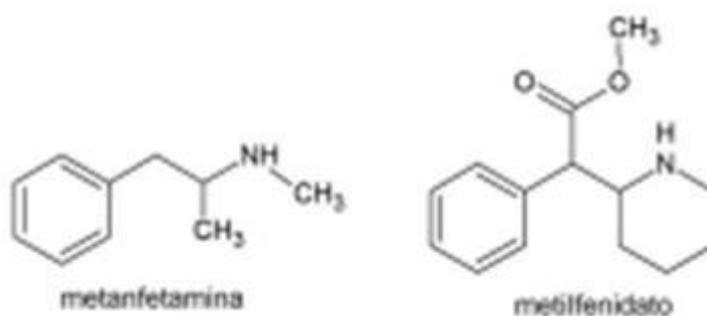
### 3.6 OVERTREATMENT E O USO INADEQUADO DO METILFENIDATO

O Cloridrato de Metilfenidato, ou Ritalina adquirida de forma ilegal tem sido usada de maneira indiscriminada na sociedade, quase sempre com intuito de melhorar a atividade cognitiva, uma vez que a droga age como estimulante do sistema nervoso central. Se, no passado, este psicotrópico era usado essencialmente em patologias relacionadas aos distúrbios de atenção, hoje o metilfenidato parece estar associado ao aumento de produtividade (escolar e profissional), bem como à crença de melhor sociabilidade ou desempenho (SHIRAKAWA et al., 2012).

Por isso a Ritalina é usada por profissionais de áreas cuja atividade mental é exigida por uma quantidade de tempo significativa, e visando a melhoria de

desempenho, como advogados, cientistas e alunos de faculdade. Isso acaba por ocasionar casos de doping mental (Figura 7), ou Overtreatment, nestes quadros os usuários não percebem que os efeitos colaterais da droga levando a ansiedade, insônia e até dependência química. (SHIRAKAWA et al., 2012).

**Figura 7** - Fórmulas moleculares da metanfetamina e metilfenidato.

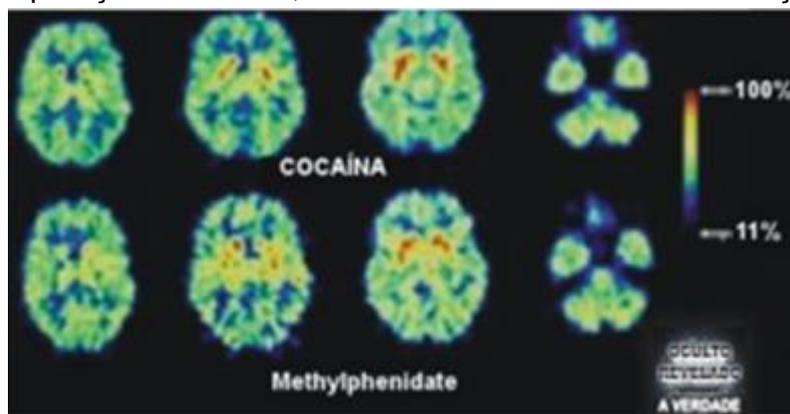


**Fonte:** Macedo et al., (2018).

Faraone (2003) considera que o uso descontrolado de anfetaminas tem se tornado uma grande preocupação, pois leva a um desequilíbrio neurológico, alterando a funcionalidade das catecolaminas. De acordo com pesquisas feitas pelo United Nations Office on Drugs and crime (UNODC), as anfetaminas quando administradas a pessoas saudáveis, observa-se anormalidade da atividade cerebral associadas a neuroquímicos (Figura 8). O efeito do consumo de anfetaminas é considerado ao longo da vida. Ainda que os usuários não estejam mais fazendo uso da droga, o vício no fármaco pelo sistema de recompensa da dopamina (FARAONE, 2003).

Como demonstrado na Figura 8, a cocaína e a Ritalina atuam nos mesmos locais no cérebro e o medicamento deixa sinais de toxicidade. Com isso o neurônio não faz o uso do sistema de retroalimentação, levando ao acúmulo de substâncias tóxicas na fenda sináptica. O desequilíbrio das monoaminas está associado a distúrbios emocionais e doenças mentais, como a depressão ou a dependência química. Também se nota as mudanças no comportamento nos indivíduos que recebem os psicoestimulantes como o Metilfenidato (REGALIA, 2015).

**Figura 08** - Exame de neuroimagem que evidencia o mecanismo do metilfenidato em comparação a cocaína, com o mesmo foco cerebral de ação.



Fonte: Volkow et al., (1997).

Estudo feito pela Dra. Silmara Batistela (2011), psicóloga do departamento de psiquiatria da Universidade Federal de São Paulo, demonstrou a ineficácia do medicamento em “estimular” cérebros saudáveis. Somente foram observados resultados significativos na dose de 40 mg, na qual os pacientes relataram uma sensação de bem-estar mais intensa em comparação aos demais (BATISTELA et al., 2011).

Com relação ao Overtreatment os relatos de estudantes que fazem uso de metilfenidato sem prescrição médica, dizem ser de fácil acesso a compra da droga quando de discussões relatam em fóruns de discussão na internet, o que aumenta ainda mais o uso indiscriminado da droga. Outra estratégia usada pelos usuários é simulação de sintomas do TDAH e ter expectativa de diagnóstico e recebimento de medicamento. O que chama atenção da comunidade médica quanto a identificação e avaliação sistemática de todos os casos principalmente no caso de adultos. Ressalta-se que os sintomas de TDAH não aparecem repentinamente, mas sim acompanham o paciente desde a infância (REGALIA, 2015).

O uso indiscriminado do metilfenidato se faz principalmente por estudantes universitários, empresários e profissionais da área de saúde, os quais têm um conhecimento mais aprofundado sobre a droga em relação à população em geral. Se, no passado, este psicotrópico era usado essencialmente em patologias relacionadas aos distúrbios de atenção, hoje o metilfenidato parece estar associado ao aumento de produtividade (escolar e profissional), bem como à crença de melhor sociabilidade ou desempenho. (BATISTELA et al., 2011).

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Há uma carência de estudos sobre as consequências neuronais causadas pelas anfetaminas, e alternativas de tratamentos menos agressivos ao sistema nervoso.
2. Essa carência pode acarretar uma cascata de problemas sociais, onde indivíduos não portadores forjem diagnóstico ou busquem de forma ilegal a fármaco cloridrato de metilfenidato, que promete “aumentar a capacidade intelectual”, se tornando dependentes da droga.
3. Pode-se concluir que o medicamento apresenta melhora em portadores do transtorno, porem pode causar danos irreversíveis em não portadores.
4. O metilfenidato não tem a capacidade de melhorar a capacidade intelectual, apenas estimula o sistema de retroalimentação neuronal. E como qualquer outra droga os efeitos colaterais podem não valer a pena a longo prazo e levando em consideração o aumento da dosagem para o mesmo efeito.

## REFERÊNCIAS

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, **Manual Estatístico e Diagnóstico dos Transtornos Mentais**, 5a edição - DSM-5. Porto Alegre: APA, 2014. 948p.

ASSOCIAÇÃO PSIQUIÁTRICA AMERICANA (APA). **Manual Estatístico e Diagnóstico dos Transtornos Mentais**, 5a edição - DSM-5. Porto Alegre: Artmed; 2014.

[ABDA](#) (Associação Brasileira do Deficit de Atenção) ; maio 10, 2017. | [Sobre TDAH](#)

ANDRADE ER, Scheuer C. **Análise da eficácia do metilfenidato usando a versão abreviada do questionário de conners em transtorno de déficit de atenção/hiperatividade**. Arq Neuro-Psiquiatr.62(1):81-5, 2004.

ANDRADE, C R M de et al. **Transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH)**. Revista Médica Minas Gerais. Belo Horizonte, MG, 21 (4): 455-464, 2011.

BARROS, D.; ORTEGA, F. **Metilfenidato e aprimoramento cognitivo farmacológico: representações sociais de universitários**. Saudesoc. v. 20, n. 2, p. 350-362, 2011

BATISTELA S. **Efeitos da administração aguda de diferentes doses do metilfenidato sobre a cognição de jovens saudáveis**. Tese (Mestrado) – Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Psicobiologia, 2011

BRANT, L C et al. **Metilfenidato: medicamento gadget da contemporaneidade.** Interface Comunicação Saúde Educação, Universidade Estadual Paulista (Unesp). v. 16, n. 42, p. 623-36. Botucatu, SP, jul./set. 2012.

BRZOZOWSKI, F. S.; DIEHL, E. E. **Transtorno de déficit de atenção/hiperatividade: o diagnóstico pode ser terapêutico?** Psicol. estud., v.18, n. 4, p. 657-665, 2013.

BURNS, D A R et al. **Tratado de Pediatria Sociedade Brasileira de Pediatria.** Manole. 4 Ed. v. 1. Barueri, SP, 2017. Seção 5

CALIMAN, L.V. (2008). **O TDAH: entre as funções, disfunções e otimização da atenção.** *Psicol. Estudo*, 13(3), 559-566.

CASTRO, Carolina Xavier Lima; DE LIMA, Ricardo Franco. **Consequências do transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) na idade adulta.** Revista Psicopedagogia, v. 35, n. 106, p. 61-72, 2018.

COUTO, Taciana de Souza; DE MELO-JUNIOR, Mario Ribeiro; DE ARAUJO GOMES, Cláudia Roberta. **Aspectos neurobiológicos do transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (TDAH): uma revisão.** *Ciênc. cogn.*, Rio de Janeiro , v. 15, n. 1, p. 241-251, abr. 2010. Disponível em <[http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S180658212010000100019&lng=pt&nrm=iso](http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S180658212010000100019&lng=pt&nrm=iso)>. acessos em 28 nov. 2022.

FARAONE SV et al, **The worldwide prevalence of ADHD: is it an American condition?** The World Psychiatric Association. Genebra, 2(2):104-113, 2003.

dos Santos FIGUEIREDO, Elza Carneiro. **"PÓS-GRADUAÇÃO "LATO SENSU" A VEZ DO MESTRE."** *Rev Med Minas Gerais.* 21(4): 455-464, 2011.

GUYTON, Arthur C.; HALL, John E. **Guyton and Hall textbook of medical physiology.** 2011.

ILARIO, C. et al. **Can ADHD have an adulthood on set?.** *L'encephale*, v. 45, n. 4, p. 357- 362, 2019.

LOPEZ-LOPEZ, Ana y SOCIEDAD ESPANOLA DE NEUROPEDIATRIA. Grupo de Trabajo TDAH et al. **Tratamiento del trastorno por déficit de atención con hiperactividad en la práctica clínica habitual: Estudio retrospectivo.** *Medicina (B. Aires)* vol.79, n.1, suppl.1, pp.68-71. ISSN 0025-7680, 2019.

MUZZETI, C. M. G., & Vinhas, M. C. Z. de L. **Influência do déficit de atenção e hiperatividade na aprendizagem em escolares.** *Psicologia Argumento.* (2017).

de MACEDO, Júlia Borges et al. **Fármacos inovadores em saúde mental: uma avaliação das duas últimas décadas.** *Revista de Medicina*, v. 97, n. 4, p. 385-395, 2018.

ORTEGA, Francisco et al. **A ritalina no Brasil: produções, discursos e práticas.**

Interface Comunicação, Saúde, Educação, v. 14, p. 499-512, 2010.

PINEL, John P. J **Biopsicologia** (6e). p105, 2007.

REGALLA M. a. et al, **Attention Deficiei Hyperactivi Disorder is an Independent Risk Factor lower Resilience in Adolescents: a pilot study**. Trends Psychiatry Psychother. 37:157-160, 2015.

SADOCK, B J. **Compêndio de psiquiatria: Ciência do Comportamento e Psiquiatria Clínica**. Artmed. 11. ed. Porto Alegre, RS, 2017

SARKIS SM, Sarkis EH, Marshall D, Archer J. **Self-Regulation and Inibition in Comorbid ADHD Children: An Evaluation of Executive Functions**. J Atten Disord. 8:96-108, 2005.

SHAW P, Eckstrand K, Sharp W, Blumenthal J, Lerch JP, Greenstein D, Clasen L, Evans A, Giedd J, Rapoport JL. **Attention-deficit/hyperactivity disorder is characterized by a delay in cortical maturation**. Proc Natl Acad Sci U S A. 4;104(49):19649-54, Dez, 2007.

SHIRAKAWA MD et al. **Questões atuais no uso indiscriminado do metilfenidato**. Omnia Saúde, 9(1):46-53, 2012.

SIEGEL , C. E., Laska, E. M., Wanderling, J. a, Hernandez, J. C. & Levenson, R. B. **Prevalence and diagnosis rates of childhood ADHD among racial-ethnic groups in a public mental health system**. Psychiatr. Serv. 67, 199–205 (2016).

VOLKOW, N. D. et al. **Decreased striatal dopaminergic responsiveness in detoxified cocaine-dependent subjects**. Nature, v. 386, n. 6627, p. 830-833, 1997.

# DOENÇA DE PARKINSON: FISIOPATOLOGIA, DIAGNÓSTICO, TRATAMENTO E ASPECTOS EPIGENÉTICOS

## PARKINSON'S DISEASE: PATHOPHYSIOLOGY, DIAGNOSIS, TREATMENT AND EPIGENETIC ASPECTS

Júlia Keneipp Ferreira<sup>1</sup>  
Andressa Megumi Niwa<sup>2</sup>

### RESUMO

A Doença de Parkinson (DP) é caracterizada como uma doença neurodegenerativa, que afeta progressivamente os neurônios motores através da redução do neurotransmissor Dopamina principalmente na via nigroestriatal, e acúmulo de proteínas intraneuronais anormais. Por mais que a causa da DP não seja bem definida, sabe-se que é uma doença esporádica, cujo desenvolvimento é influenciado por fatores genéticos e ambientais. A falta de informação faz com que muitos especialistas tenham a dúvida no diagnóstico da doença, atrasando o tratamento e eficácia na melhora dos sintomas. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo mostrar uma forma mais específica de diagnóstico e tratamento da DP, além de mostrar as causas epigenéticas que possam estar envolvidas, principalmente pela maior parte dos casos serem idiopáticos, e estarem relacionados com exposições ambientais e modificações epigenéticas. Foi realizada uma pesquisa bibliográfica obtida por meio de dados qualitativos, conceitos e técnicas retiradas de artigos, teses e dissertações presentes em sites como SciELO, Google Acadêmico e PubMed publicados, preferencialmente, nos últimos dez anos. O diagnóstico é feito por meio de avaliação física, complementado por escalas, exames de sangue e exames de imagem. O tratamento é feito por meio medicamentoso, tendo como o principal, a L-DOPA, agonistas dopaminérgicos e inibidores da COMT. Logo, a contribuição do trabalho para a comunidade é mostrar mais a fundo as possíveis causas da DP, a fim de direcionar um diagnóstico e tratamento mais específico e individualizado, trazendo melhora na qualidade de vida do paciente.

**Palavras-chaves:** distúrbios do movimento; depleção dopaminérgica; epigenética.

### ABSTRACT

Parkinson's Disease (PD) is characterized as a neurodegenerative disease, which progressively affects motor neurons through the reduction of the neurotransmitter Dopamine, mainly in the nigrostriatal pathway, and the accumulation of abnormal intraneuronal proteins. Even though the cause of PD is not well defined, it is known that it is a sporadic disease, whose development is influenced by genetic and environmental factors. The lack of information means that many specialists have doubts about diagnosing the disease, delaying treatment and effectiveness in

<sup>1</sup> Discente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). E-mail: juliakeneipp19@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Docente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). Email: andressa.niwa@unifil.br

improving symptoms. Therefore, the present study aimed to show a more specific way of diagnosing and treating PD, in addition to showing the epigenetic causes that may be involved, mainly because most cases are idiopathic, and are related to environmental exposures and epigenetic modifications. A bibliographical research was carried out using qualitative data, concepts and techniques taken from articles, theses and dissertations on websites such as SciELO, Google Scholar and PubMed published, preferably, in the last ten years. The diagnosis is made through physical assessment, complemented by scales, blood tests and imaging tests. Treatment is done through medication, the main ones being L-DOPA, dopaminergic agonists and COMT inhibitors. Therefore, the contribution of the work to the community is to show in more depth the possible causes of PD, in order to direct a more specific and individualized diagnosis and treatment, bringing an improvement in the patient's quality of life.

**Keywords:** movement disorders; dopaminergic depletion; epigenetics.

## 1 INTRODUÇÃO

A Doença de Parkinson é caracterizada pela rápida progressão e degeneração irreversível de neurônios da substância negra, presente no Mesencéfalo. Com essa degeneração, conseqüentemente, há uma diminuição da Dopamina que é o principal neurotransmissor que atua no controle dos movimentos. Além do desbalanço motor, manifestações não motoras do Sistema Nervoso Autônomo, como a depressão, distúrbios do sono e de memória podem acontecer devido a desregulação neuronal (BARBOSA; SALLEM, 2005).

Atualmente, é considerada a segunda maior doença neurodegenerativa que mais afeta a população, principalmente a mais idosa, atingindo cerca de 1% da população mundial e com uma prevalência de 100 a 200 casos por 100 mil. No Brasil, não há muitos estudos estatísticos, mas estima-se que o número esteja em torno de mais de 200 mil pessoas (PETERNELLA; MARCON, 2009; SOUZA et al., 2011).

A causa da DP não é bem estabelecida, mas sabe-se que é uma doença onde há fatores genéticos e ambientais envolvidos. Práticas como ficar exposto a agentes pesticidas, herbicidas e metais pesados podem aumentar potencialmente os riscos de desenvolvimento da DP. Além dos fatores ambientais, há fatores que alteram a expressão gênica sem mudar a sequência de DNA, como a metilação do DNA e modificações pós transcricionais de histonas (ANGELOPOULOU et al., 2022). Todas essas evidências revelaram que vários efeitos celulares de genes relacionados à DP e fatores ambientais compartilham mecanismos, incluindo comprometimento

mitocondrial, estresse oxidativo e inflamação (PANG et al., 2019). No que diz respeito aos diagnósticos, há muita dificuldade devido a variações da DP. Visando isso, além das escalas de diagnóstico, procura de biomarcadores e genes envolvidos, também são utilizadas técnicas efetivas de imagem como a Ressonância Magnética, Tomografia e Medicina Nuclear, onde radiotraçadores foram desenvolvidos para estimar a perda de neurônios dopaminérgicos (CHI; MING et al., 2006). Em relação ao tratamento, há uma técnica nova e promissora chamada de Estimulação Cerebral Profunda, que consiste na aplicação de correntes elétricas de baixa intensidade em regiões profundas do encéfalo de forma muito seletiva, a fim de neuromodular as estruturas e aliviar os sintomas (FERREIRA, 2014).

Logo, o intuito do trabalho é mostrar a interação das diversas causas da Doença de Parkinson, como ocorrem os mecanismos epigenéticos, e o que pode estar relacionado com o desenvolvimento da patogênese, visto que esses fenômenos são pouco estudados, mas que podem ser essenciais para o desdobramento de uma possível cura. Além dos mecanismos epigenéticos, serão abordadas as atualizações de pesquisas sobre o DAT (Transportador de Dopamina) e diagnóstico associado a ele, assim como novas técnicas de tratamento como a Estimulação Cerebral Profunda, que irão trazer mais segurança ao paciente quanto ao diagnóstico e tratamento, além de reduzir os sintomas, progressão da doença e também os medicamentos. O diagnóstico precoce é extremamente importante, pois permite retardar a progressão da doença, aumentando a estimativa de vida.

## **2 METODOLOGIA**

O presente estudo foi realizado por meio de uma pesquisa bibliográfica de caráter exploratório e qualitativo contendo dados, conceitos e técnicas retirados de artigos científicos, teses e dissertações sobre o tema em bibliotecas, sites e plataformas online como o SciELO, PubMed e o Google Acadêmico. A fim de obter um trabalho com temas mais atuais, foi dada preferência para trabalhos publicados, preferencialmente, nos últimos dez anos (2012 a 2023). As buscas ocorreram pela seleção das palavras-chave e pela restrição do período das publicações. Em seguida, foram realizadas as leituras, fichamentos e resenhas dos artigos, os quais serviram de embasamento teórico para a construção do trabalho final.

## 3 DOENÇA DE PARKINSON

### 3.1 Aspectos Gerais Da Doença

A Doença de Parkinson foi descrita pela primeira vez em 1817, pelo médico inglês James Parkinson com base em estudos de 6 pacientes. Atualmente é tida como uma doença neurodegenerativa rápida e progressiva que atinge principalmente o sistema motor, porém sabe-se que manifestações não motoras, como alterações no sono, alterações de memória e depressão, podem ocorrer de acordo com a área afetada (BARBOSA; SALLEM, 2005). A degeneração dos neurônios dopaminérgicos faz com que haja deficiência em áreas motoras, principalmente por estarem relacionadas com os gânglios da base, onde ocorrem as vias diretas e indiretas do movimento. Como resultado dessa alteração, há o aparecimento de sintomas como o tremor em repouso, rigidez, bradicinesia (movimento lento), entretanto, esses sintomas só aparecem depois de um certo grau de acometimento neuronal (TYSNES; STORSTEIN, 2017).

O envelhecimento acelerado da população mundial, principalmente naqueles países que estão em desenvolvimento, tem causado preocupação nos órgãos de saúde pública, que têm de se adaptar implementando novas estratégias para a atenção e promoção da saúde (SILVA, 2019). Em conjunto com o envelhecimento, há o aumento de doenças crônicas degenerativas. O Parkinson é a segunda doença neurodegenerativa que mais afeta a população idosa e, segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) publicados em 2014, estima-se que cerca de 10 milhões de pessoas em todo o mundo são afetadas, sendo no Brasil uma média de 200 mil casos (PETERNELLA; MARCON, 2009; SOUZA et al., 2011).

### 3.2 Sintomas

A Doença de Parkinson possui uma série de alterações funcionais que é denominada como parkinsonismo que pode ser dividido em primário ou idiopático, secundário e plus ou atípico (PEREIRA et al., 2003; ANDRÉ, 2004). O parkinsonismo ou síndrome parkinsoniana engloba os principais sintomas: bradicinesia, rigidez (hipertonia muscular), tremor de repouso e instabilidade postural. Quando os sintomas

começam a aparecer, é possível que já haja uma perda de 40 a 60% nos neurônios dopaminérgicos. Além dos sintomas motores, é observado conforme a doença avança, sintomas não motores como a depressão e até cognitivos como a demência, além de distúrbios do sono, e gastrointestinais (CORREIA et al., 2013).

### 3.2.1 Sintomas motores

Acinesia ou Hipocinesia, é o termo designado a pobreza de movimentos e lentidão geral ao executar os movimentos espontâneos ou automáticos. Por isso, o paciente portador da doença possui pouca expressividade facial (hipomimia facial) assim como apresenta redução nos movimentos, por exemplo em uma típica redução do movimento nos braços durante a marcha, e períodos injustificados de pausas no ato de falar. A Acinesia pode ser súbita/freezing que é quando há perda abrupta da capacidade de sustentar alguma posição. Esse fenômeno pode ocorrer durante a marcha por conta de alguma tensão emocional, estímulos sensoriais como elevações no solo, etc. Tremor de repouso é o sintoma mais característico da DP. Tal como o nome indica, surge quando o membro está em repouso e desaparece quando a pessoa executa movimentos ativos. Acomete com mais frequência os membros superiores mas também é observado em membros inferiores. Possui características peculiares, como o movimento em “contar de notas”, com uma amplitude moderada e uma frequência que varia de 5 a 8 Hz. Rigidez do tipo plástica (acometimento global da musculatura), é observado quando há comprometimento do sistema extrapiramidal. É comum que esteja presente o sinal da "roda denteada" que na prática se refere movimentar a articulação de uma pessoa com rigidez, sente-se como se houvesse uma engrenagem com uma roda denteada na articulação. Instabilidade postural: incapacidade de equilibrar-se, às vezes com história de quedas frequentes. Ao examinarmos, podemos dar um leve empurrão no paciente e observar sua reação para equilibrar-se (TUMAS, V, 2018). Comprometimento da fala, micrografia (CABREIRA; MASSANO, 2019; CHOU, 2020).

### 3.2.2 Sintomas não motores

A depressão ocorre em quase 40% dos pacientes com Parkinson e tem

influência sobre a qualidade de vida do paciente, aumentam os custos diretos e indiretos do tratamento e sobrecarregam ainda mais o cuidador (SILBERMAN et al., 2004). O quadro de depressão da DP ocorre por conta da diminuição de DA, principalmente na substância negra que é onde ocorre a maior produção de DA. Os sinais associados à depressão na DP possuem o mesmo quadro clínico da depressão geral, com os seguintes sintomas: diminuição do humor, pensamentos pessimistas e aumento da culpa. Geralmente esses sinais estão estabelecidos antes mesmo do diagnóstico. Os distúrbios do sono também são frequentes em pacientes com DP, estando entre eles: Transtorno comportamental do sono REM, sonhos atípicos, insônia, sonolência diurna. Além disso, problemas gastrointestinais, como disfagia e constipação também podem ocorrer (FUENTES, 2014).

### 3.3 Tipos de Parkinsonismo

O Parkinsonismo primário concentra a maior parte dos casos, porém, a causa ainda não é totalmente estabelecida. Engloba a Doença de Parkinson idiopática e as formas hereditárias. As formas hereditárias são mais fáceis de se identificar, devido ao aparecimento precoce e histórico familiar. Os casos de Parkinson em jovens são muitas vezes um desafio para médicos, pacientes e familiares. A associação de que a doença é exclusiva dos idosos pode dificultar a procura por um neurologista e o correto diagnóstico.

Já no Parkinsonismo secundário, há condições em que uma causa específica pode ser identificada. O principal mecanismo é o bloqueio ou interferência na ação da dopamina nos gânglios da base. As causas podem estar envolvidas com drogas, que interferem e bloqueiam os receptores dopaminérgicos; intoxicações por metais pesados, infecções como encefalites virais, HIV; Hipoparatiroidismo, Traumatismo Cranioencefálico, entre outros.

E por último, o Parkinsonismo plus ou atípico, que compartilha algumas características clínicas com a Doença de Parkinson, mas são separadas por seus achados patológicos, respostas diferentes ao tratamento, principalmente a Levodopa, e ainda podem não apresentar tremor. Entre as patologias que se enquadram no Parkinsonismo atípico estão: Paralisia Supranuclear Progressiva, Atrofia de Múltiplos Sistemas, Degeneração Corticobasal /Síndrome Corticobasal, Demência por Corpus

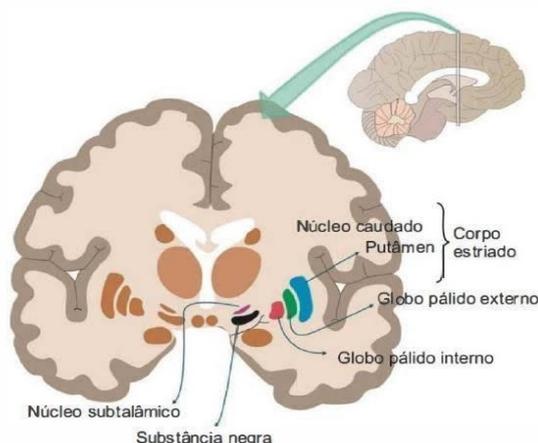
de Lewy's, Parkinsonismo Vascular (BERARDELLI; WENNING et al., 2013).

### 3.4 Neuroanatomia da DP

As bases de compreensão neuroanatômica DP se baseiam no Mesencéfalo, onde está presente a substância negra com grande concentração de neurônios dopaminérgicos e que possui relação direta com o Telencéfalo, onde estão os Núcleos ou Gânglios da base (KANDEL et al., 2014).

Os gânglios da base são interconectados por um sistema que atua no controle da motricidade além do comportamento e em funções cognitivas (TUMAS, 2018). É constituído por um conjunto de estruturas subcorticais encontrados profundamente na substância branca do cérebro, que se estende ao telencéfalo, diencéfalo e mesencéfalo. As estruturas que fazem parte dos gânglios da base são: corpo estriado (núcleo caudado e putâmen - telencéfalo), globo pálido (dividido em porções: interna ou medial e externa ou lateral), núcleo subtalâmico (NST - diencéfalo), e substância nigra ou negra (mesencéfalo), dividida em pars compacta (SNpc) e pars reticulada (SNpr) (KANDEL et al., 2014).

**Figura 1 - Núcleos da base.**



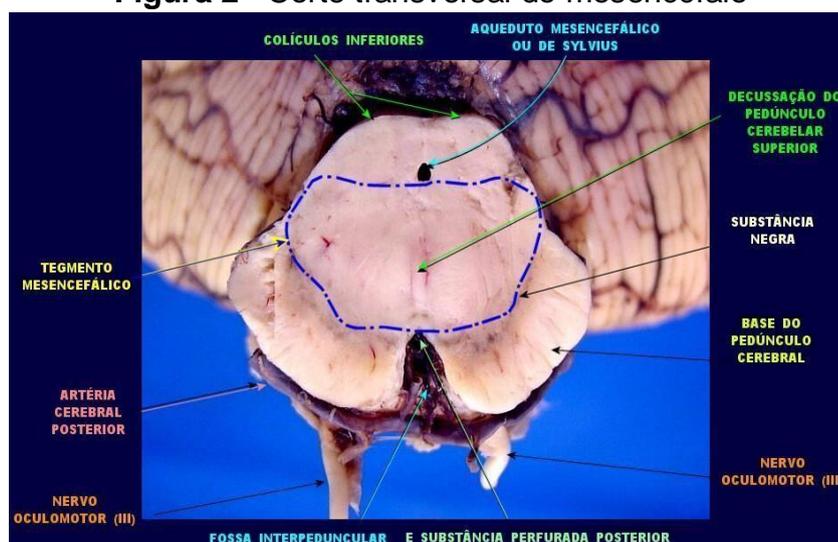
**Fonte:** Curi e Procópio (2011).

O circuito motor pode ser dividido em via direta e indireta, além do complemento da via dopaminérgica. A via direta é favorável à execução do movimento, ela se inicia com um estímulo excitatório através do neurotransmissor Glutamato que vem do córtex motor, e as projeções excitatórias inervam o estriado (Núcleo caudado e

Putâmen). O estriado inibe o Globo pálido interno (GPi) por meio de um neurotransmissor inibitório, e por consequência o GPi não executa a função de inibir o Tálamo. A não inibição do Tálamo faz com que o potencial excitatório volte para o Córtex, que envia sinais à Medula para realizar o movimento. Por conseguinte, a via indireta é contra a execução dos movimentos, ela se inicia do mesmo modo que a direta recebendo estímulo excitatório do córtex, inervando os neurônios espinhosos (as projeções dos dendritos aumentam o contato entre um neurônio e outro) para o estriado, mas ao invés do estriado inibir o GPi, a inibição vai ser no GPe. Com inibição do GPe, o núcleo subtalâmico que possui neurônios Glutamatérgicos (excitatório) está livre para se ligar e ativar o GPi, que por sua vez inibe o Tálamo por meio do neurotransmissor GABA e não estimula o córtex para realizar os comandos do movimento (OBESO et al., 2002).

A substância negra está presente em uma porção mais caudal, situada entre a base do pedúnculo cerebral e tegmento mesencefálico e é dividida em duas porções: *pars compacta* (parte dorsal) e *pars reticulada* (parte ventral). Sua coloração provém de um subproduto da Dopamina chamado de neuromelanina (NM), que são grânulos presentes abundantemente no citoplasma de neurônios dopaminérgicos, e é liberada pelos neurônios em degeneração. A abundância da NM no SNC começa muito cedo na vida e se estende até a senescência. Ademais, com sua liberação por neurônios em degeneração ocorre a ativação da micróglia (células imunes do Sistema Nervoso), e aumento da sensibilidade destes neurônios à morte celular pelo estresse oxidativo pois a neuroproteção dos neurônios pela NM ocorre justamente por ela se ligar a metais pesados como ferro, cobre e zinco, e quando ela é liberada, pode causar toxicidade do SN por conta desses compostos (REIMÃO et al., 2014; ZUCCA et al., 2014).

**Figura 2 - Corte transversal do mesencéfalo**



Fonte: Adaptado de ANATPAT UNICAMP (2020).

### 3.5 Fisiopatologia e Aspectos Químicos

A fisiopatologia da DP está associada com uma neurodegeneração e disfunção dos sistemas neurotransmissores na substância negra *pars compacta* na via nigro estriatal. Com a depleção dos neurônios dopaminérgicos da substância negra e estriado, o funcionamento das vias se altera, a via indireta se torna hiperativada, e a direta hipoativada (CALABRESI et al., 2014). Sua origem neuroquímica foi elucidada pela primeira vez em 1960 pelo Bioquímico austríaco Oleh Hornykiewicz, que realizou um estudo em Encéfalos post-mortem e mostrou que a concentração de Dopamina na substância negra *pars compacta* e do estriado (Núcleo caudado e Putâmen) estavam muito baixos e isso estava implicando na redução dos neurônios dopaminérgicos (MEREDITH et al., 2008).

Posteriormente, foi descoberto que a redução seletiva dos neurônios dopaminérgicos na DP não estava somente relacionados ao estriado e sim com todas as estruturas dos gânglios da base. Além disso, em alguns pacientes com DP foi detectada a perda neuronal nos Núcleos basais de Meynert, localizados no Globo Pálido. Esses neurônios são ricos em colina acetiltransferase e neurônios colinérgicos que se projetam para o Córtex. Dessa forma, com a perda neuronal nesses núcleos, haverá uma diminuição de acetilcolina, contribuindo para uma disfunção cognitiva (WERNECK, 2010).

Um outro achado patológico da DP são os Corpúsculos de Lewy, descritos em 1912, por Friedrich Heinrich Lewy, como inclusões intraneuronais de proteínas filamentosas anormais de coloração eosinofílica, sendo a proteína de maior importância a Alfa-sinucleína, composta por mais de 140 aminoácidos diferentes e muito expressa no Sistema Nervoso Central, principalmente no mesencéfalo (WAKABAYASHI, 2008). A Alfa-sinucleína está presente em neurônios de todo Sistema Nervoso Central, principalmente nos terminais pré-sinápticos de corpos celulares dos neurônios dopaminérgicos onde ocorre a distribuição do neurotransmissor DA. Sua função está atribuída a regulação da homeostase celular, portanto, quando essa proteína está anormal podem ocorrer danos em vias celulares, prejudicando ainda mais o equilíbrio entre as diferentes formas da Alfa-sinucleína e induzir uma destruição neuronal (YSHII, 2011). Quando há uma proteína com função anormal, ela é marcada pela proteína Ubiquitina. A Ubiquitina é uma proteína globular pequena que pode ser encontrada livre, ou ligada covalentemente a si, ou ainda ligada a outras proteínas por meio das enzimas E1, E2 e E3. Ela desempenha uma função de regulação e uma vez que se conjuga com outra proteína, a envia para a destruição pelo sistema UPS, sendo este, importante no controle de danos ou de proteínas malformadas e mediador da plasticidade sináptica (alteração da função neuronal em resposta de injúrias) (FIGUEIREDO, 2015).

### 3.5.1 Neurotransmissão

Para a regulação de um corpo como um todo, é necessária uma maquinaria cerebral bem desenvolvida com a presença de uma rede de neurônios (células do sistema nervoso capazes de enviar impulsos elétricos ou químicos, a fim de desencadear uma ação fisiológica) e neurotransmissores (MACHADO, 2006). A neurotransmissão ocorre por meio da junção de vários neurônios (Sinapse), que podem ocorrer por impulsos químicos ou elétricos. Normalmente a sinapse é química, e a transmissão do neurotransmissor ocorre de um neurônio pré-sináptico para um pós-sináptico. Este mediador químico é liberado na fenda pré-sináptica e se liga a receptores no neurônio pós-sináptico. A sinapse pode ser puramente elétrica, ou puramente química ou pode ser mista elétrico-química (STANDAERT, 2009).

### 3.5.2 Dopamina

A Dopamina é um neurotransmissor monoaminérgico da família das Catecolaminas reconhecida por seu papel na regulação da atividade motora, processos cognitivos e, principalmente, no sistema de recompensa. A molécula da Dopamina recebe o nome IUPAC 4-(2-aminometil)benzenodiol com a fórmula química  $C^8H^{11}NO^2$  (HASTINGS et al., 2016). Além de seus efeitos fisiológicos, está presente em estados patológicos como a DP, esquizofrenia, vitiligo, e também é indicada como fármaco em casos de equilíbrio hemodinâmicos, traumas, septicemia, uma vez que seu tempo de meia vida é de 2 minutos (WISHART et al., 2006; DRUGBANK, 2020)

A produção da DA é feita principalmente no Mesencéfalo pelos neurônios nigrais, neurônios da área tegumentar ventral, bem como pelas glândulas suprarrenais. Assim como as Catecolaminas como a Adrenalina e Noradrenalina, sua biossíntese tem início com o aminoácido Tirosina, que primeiro é convertida em L-3,4dihidroxi-fenilalanina (L-DOPA) pela enzima Tirosina Hidroxilase (uma ferro-enzima que oxida a posição 3 do anel benzeno), e depois é convertida em DA pela ação da L-aromático -aminoácido-descarboxilase (FLAMES; HOBERT, 2011).

São necessárias duas bombas moleculares separadas para o transporte da DA nas vesículas. Uma chamada de ATPase (Adenosina Trifosfatase) que cria um gradiente eletroquímico caracterizado por pH intravesicular baixo, e um interior positivo da vesícula; o outro é chamado de VMAT (Transportador vesicular para monoaminas) que desloca os prótons para favorecer o gradiente de concentração e ao mesmo tempo desloca a DA para dentro da vesícula. A DA que foi armazenada nas vesículas sinápticas, depende de um gradiente de concentração para ir para a fenda sináptica. A despolarização abre os canais de Cálcio voltagem dependentes, permitindo que haja um influxo de Cálcio e faça a exocitose para o espaço sináptico. A DA que está no espaço sináptico pode se ligar a receptores pós-sinápticos ou a auto receptores pré-sinápticos. No caso da recaptação ela é rapidamente transportada de volta para o neurônio pré-sináptica por meio do DAT. Uma vez recaptada ela pode ser reciclada para ser usada em uma nova neurotransmissão ou degradada pelas enzimas MAO (monoamina oxidase) ou COMT (catecol-O-metil transferase) (BORTOLATO et al., 2008). Além do metabolismo pela MAO ou COMT, a DA pode

sofrer auto oxidação e ser catalisada por metais de transição como o ferro, levando a produção de O<sub>2</sub> e O-quinonas (PARIS et al, 2009). O influxo contínuo do Cálcio é necessário para modular a liberação de DA pelos neurônios, mas sua presença duradoura em conjunto com alguns fatores como envelhecimento, mutações e toxinas mitocondriais, pode levar a um stress oxidativo e dano mitocondrial levando à morte celular (SURMEIER et al., 2011; GUZMAN et al., 2018).

### 3.5.3 Receptores dopaminérgicos

A ativação da dopamina se dá entre a interação de suas moléculas com seus respectivos receptores, que são receptores metabotrópicos. São divididos em duas classes com subtipos: classe D1 que possui os receptores D1 e D5, enquanto que a classe D2 contém D2, D3 e D4 (STANDAERT; GALANTER, 2012). Os receptores D1 estimulam a enzima adenilato ciclase e aumentam o nível intracelular de AMP/cAMP cíclico (adenosina 3',5'-monofosfato cíclico), molécula importante na transdução de sinal em uma célula, enquanto o receptor D2 inibe essa enzima e diminui o AMP/cAMP cíclico. A propagação do impulso excitatório ocorre, pois, o receptor D1 está acoplado à proteína G que estimula a abertura dos canais iônicos de Cálcio, e regulação do gradiente eletroquímico de Sódio e Potássio, despolarizando a membrana e causando o efeito excitatório. Já os receptores D2 são acoplados a proteínas G inibitórias (G<sub>i</sub>), impedindo a propagação do impulso. (RANGEL et al., 2015).

### 3.5.4 DAT (Transportador de Dopamina)

O DAT ou SLC6A3 é membro da superfamília de proteínas transportadoras de neurotransmissores dependentes de sódio. A principal função do DAT é regular os níveis de Dopamina por meio da recaptação extracelular deste neurotransmissor para o interior do neurônio pré-sináptico (OLIVEIRA; BRUNI; MELO, 2021). No cérebro de mamíferos, a proteína DAT é distribuída principalmente nos neurônios dopaminérgicos mesencefálicos da substância nigra pars compacta e da área tegmental ventral e é particularmente enriquecida no corpo estriado e núcleo accumbens. Por serem áreas extremamente ligadas à DP, o DAT se tornou uma ferramenta diagnóstica muito útil (VARRONE; CHRISTER, 2010). Uma forma de se avaliar a densidade do DAT é por

uma associação da Medicina Nuclear com a Tomografia por emissão de pósitrons (FELÍCIO, 2011).

### 3.5.5 Via Dopaminérgica afetada na DP

No Sistema Dopaminérgico há quatro vias de transmissão: via nigroestriatal, via mesolímbica e mesocortical e via túbero-infundibular. A via mais afetada na DP é a nigroestriatal que tem origem predominantemente na substância negra do Mesencéfalo. Ela age em conjunto da via direta e indireta dos Gânglios da base e está relacionada à amplificação da excitação ou inibição tônica. A Dopamina é proveniente da substância negra, e atinge o estriado por meio das ramificações dos neurônios espinhosos com receptores excitatórios D1, causando amplificação da resposta e na via inibitória atinge o estriado com receptores inibitórios D2, causando inibição da resposta (OBESO et al., 2002).

## 3.6 Causas e Aspectos Epigenéticos

As causas da DP ainda são bem incertas, mas é proposta como um distúrbio multifatorial, ou seja, possuem interações genéticas e ambientais. A epigenética é o campo em que se estuda essas interações. O termo surgiu durante a Fome Holandesa em 1945, onde várias pessoas morreram por privação de suprimentos nutricionais. Após esse incidente diversos estudos observaram que a herança de tal fato foi repassada a gerações futuras, mas não houve alteração da sequência de DNA em si (FRANCIS, 2015). Ademais, o crescimento da epigenética se deu só no século 21 com os estudos de alguns pesquisadores que demonstram que nossos genes não nos definem inteiramente, ou seja, também há interação ambiental. Entre as exposições ambientais mais associadas à DP estão: exposição prolongada a pesticidas, metais pesados, e a cafeína e nicotina que desempenharam um efeito reverso de neuroproteção (COPPEDE; MIGLIORE, 2009). As modificações da expressão gênica estão presentes em t, estão inclusas: metilação do DNA, inibindo ou expressando genes de interesse e modificações pós transcricionais das histonas (MARQUES; OLIVEIRA; OUTEIRO, 2011).

O papel da inflamação e comprometimento da autofagia demonstram estar

relacionados com o desenvolvimento da DP, pois, um desequilíbrio inflamatório ativa excessivamente a microglia, resultando em um padrão de resposta M1 (pró inflamatório) contra um padrão M2 (anti-inflamatório). As citocinas pró inflamatórias como TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$ , induz estresse oxidativo, acúmulo de  $\alpha$ -sinucleína, bem como autofagia e disfunção mitocondrial (BADANJAK K et al., 2021).

### 3.6.1 Modificações na expressão gênica

As alterações da epigenética ocorrem na cromatina que é um complexo formado pela dupla fita de DNA e histonas que realizam a compactação do DNA. Há alguns fenômenos que permitem modificar a cromatina, e eles se dão por: Metilação do DNA que se dá por uma modificação que não altera a sequência do DNA mas tem influência na expressão ou inibição dos genes. Os padrões de metilação ocorrem por meio da enzima DNA metiltransferase (DNMT) ao transferir um grupo metil no carbono 5 da Citosina, e são mais frequentes em citosinas seguidas por guaninas. Sequências ricas em dinucleotídeos de citosina e guanina se localizam principalmente na região promotoras de genes. A existência de uma Citosina metilada (ilha CpG) no DNA dificulta o acesso dos fatores de transcrição (DEICHMANN, 2016). Portanto, a hipermetilação do promotor é comumente associada ao silenciamento do gene e a desmetilação do promotor à expressão do gene. E dentre um dos genes mais importantes está o SNCA. A expressão do gene da alfa-sinucleína (SNCA) é um fator importante na patogênese da doença de Parkinson (DP). Em um estudo feito por Matsumoto e colaboradores, em 2010, usando cérebros post mortem mostra que a metilação no grupo com DP foi quase zero, enquanto que a metilação em grupos controles sem a doença foi quase 100%. Os pesquisadores observaram que a metilação do DNA do íntron 1 de SNCA foi reduzida em várias regiões do cérebro de pacientes com DP esporádicos, incluindo a substância negra, putâmen e córtex, apontando para uma regulação epigenética da expressão de SNCA na DP. Foi observado que promotores do gene de TNF- $\alpha$  também foram hipometilados, relacionando-se com um papel de neuroinflamação excessiva observada na DP (MASLIAH et al., 2013). Além de estudos envolvendo hipometilação do promotor do gene *CYP2E1* em pacientes com DP, e seu produto proteico P450 2E1 está associado com a formação de metabólitos tóxicos que contribui para a degeneração

dopaminérgica. Dada a implicação da metilação do DNA prejudicada em doenças neurodegenerativas, foi proposto que também poderia atuar como um biomarcador de diagnóstico ou prognóstico para DP (FENG; JANKOVIC; WU, 2015).

Modificações pós transcricionais de histonas: As histonas são proteínas que limitam ou não a acessibilidade do DNA, ou seja, essas modificações que envolvem o octâmero da histona nos nucleossomos podem alterar ou facilitar o acesso da maquinaria transcricional à região promotora de alguns genes, levando ao silenciamento ou ativação gênica, respectivamente. As modificações da cauda das histonas incluem acetilação, metilação, fosforilação, ubiquitinação, sumoilação e outras modificações pós-traducionais (PAVLOU; OUTEIRO, 2017). Por mais que as modificações das histonas tenham demonstrado estar envolvidas com os neurônios dopaminérgicos, ainda não se sabe os fatores que afetam os processos moleculares da DP. Mas em um estudo foi observado que houve mais acetilação de H2A, H3 e H4 em neurônios dopaminérgicos isolados do mesencéfalo de pacientes com DP, em comparação com os controles (PIEPER et al., 2008).

### 3.6.2 Fatores ambientais

Exposição a pesticidas Dieldrin, um organofosforado demonstrou em amostras pré-clínicas um aumento do ROS (espécies reativas de oxigênio) estresse oxidativo, danos mitocondriais e apoptose neuronal dopaminérgica induzida por caspase 3 (KIYOHARA, et al, 2011). Ainda foi visto que Dieldrin aumenta a acetilação das histonas levando a uma disfunção proteossomal nos neurônios dopaminérgicos mesencefálicos (FENG; LIU, et al, 2015). Exposição ao Herbicida Paraquat, que é associado à DP, induziu a acetilação de H3 em células dopaminérgicas in vitro. O tratamento com Melatonina ou Silimarina foi associado à inibição da degeneração dopaminérgica induzida por paraquat e danos oxidativos em modelos de camundongos com DP, acompanhados por diminuição da expressão de *CYP2E1*. Mancozebe assim como o Paraquat induz degeneração de neurônios dopaminérgicos (SINGHAL; SRIVASTAVA; PATEL, et al, 2011). Já o Glifosato é um pesticida que, após seu metabolismo, inativa proteínas por glicação, processo que se relaciona à patogênese da DP. Além disso, a formulação dessas substâncias geralmente contém zinco e manganês, que contribuem para a formação de radicais livres resultando em

inibição mitocondrial (HARRISON BRODY et al., 2013).

Além das exposições aos pesticidas, a toxicidade e exposição prolongada aos metais pesados também tem gerado vários danos neurológicos, principalmente no sistema extrapiramidal. O contato alumínio pode se dar de forma direta, causando toxicidade das células neuronais primárias, e indiretamente, produzindo espécies reativas de oxigênio. Um estudo de Vanduyt et al. (2013) mostrou que os transportadores mediados pelo Alumínio possuem associação com a degeneração de neurônios dopaminérgicos, e por conseguinte, ainda pode interromper a homeostase do Cálcio, por meio da interação com seus sítios (KURITA et al., 2005).

Outro estudo mostrou que a relação do cobre exacerbado está intimamente ligada à degradação de neurônios dopaminérgicos pois é o cobre que catalisa a oxidação da DA. Também é demonstrado que o cobre no líquido cefalorraquidiano se apresenta em maiores concentrações em pacientes com Parkinson que em grupos controles (HOZUMI, et al., 2011). Em outro estudo realizado por Spencer et al, 2011, demonstrou como os íons de cobre facilitam a oxidação da DA e L-DOPA na substância negra e observou-se que a oxidação do cobre e DA causam danos intensos ao DNA (SPENCER et al., 2011).

A presença de manganês na poluição do ar demonstrou estar potencialmente associado ao desenvolvimento de DP em outro estudo canadense. Ele atua como cofator para várias reações, e sua exposição excessiva resulta em sintomas parkinsonianos pois induz a disfunções mitocondriais, neuroinflamação e interrupção da sinapse (VAN; HEESBEEN et al., 2013).

### 3.7 Fatores Genéticos

Depois da idade, a história familiar é o preditor mais consistente no aumento do risco de desenvolvimento de DP. Embora a grande maioria dos casos sejam classificados como idiopáticos, várias causas genéticas já foram identificadas, e os genes mais afetados são: *SNCA*, *LRRK2*, *PARKIN (PARK2)*, *DJ-1 (PARK7)*, *PINK1*, *VPS 35*, *ATP13A2* ) e cerca de 20 outros genes abrigam variantes de risco, seguindo um padrão de herança mendeliana (autossômico dominante, autossômico recessivo e ligada ao cromossomo X) (J.M SHULMAN; P.L De JAGER; M.B FEANY, 2011). Dentre as mutações recessivas estão: gene *PARK2*, codificado pela proteína

Parkin/Parkina, e é um dos maiores genes humanos e fica localizado no cromossomo 6. Possui um papel importante na maquinaria celular, mais especificamente no sistema ubiquitina-proteassoma e manutenção mitocondrial (DAWSON; DAWSON, 2010).

Já o gene *PINK 1* fornece informações para uma proteína PTEN- induzida quinase 1. Sua função não é tão compreendida, mas parece ajudar as mitocôndrias durante os períodos de estresse oxidativo, promove a manutenção das redes mitocondriais respiratórias por meio da estabilização das cristas e endereçamento de proteínas às mitocôndrias (CHARLEN, 2010).

Associado à DP de início precoce, o gene *PARK7* fornece informações para produzir a proteína *DJ-1*. A *DJ-1* é uma pequena proteína envolvida com neuroproteção em situações de estresse oxidativo e ainda pode servir no transporte das proteínas anormais aos proteassomas (BONIFATI; OOSTRA; HEUTINK, 2004). Já a mutação no gene *PARK9*, também conhecido como *ATP13A2*, foi descoberta pela primeira vez em um caso raro de DP em um adolescente, uma forma de DP juvenil (RAMIREZ et al., 2006). Está localizado no cromossomo 1p36 e codifica uma enzima transmembrana de transporte chamada de P5 ATPase, relacionada ao lisossomo que transporta cátions inorgânicos (INZELBERG et al., 2018). Um problema na via lisossomal pode fazer com que o metabolismo da Alfa-sinucleína seja afetado (RAMIREZ et al., 2006).

Entre as mutações autossômicas dominantes estão: *SNCA* é um gene responsável pela codificação da Alfa-sinucleína, principal proteína citoplasmática encontrada nos CL. A função fisiológica da Alfa-sinucleína implica mecanismos moleculares da neurotransmissão dopaminérgica, como regulação do estresse oxidativo, manutenção da função sináptica e tráfego neuronal. A superexpressão de Alfa sinucleína reduz a atividade da TH e liberação de Dopamina, ou seja, o armazenamento de DA é muito maior, e pode contribuir para uma neurotoxicidade de DA e gerar um estresse oxidativo (CAMPELO; FERNANDA et al., 2017). *LRRK2*: As mutações dominantes na Quinase rica em leucina de repetição 2 ou *PARK 8* fazem parte da DP hereditária e até 10% da esporádica (HEALY et al., 2008). Os doentes com essa mutação apresentam sintomas representativos da DP idiopática. *LRRK2* codifica uma proteína quinase MAP localizada na membrana externa mitocondrial. A

mutação nesse gene aumenta a atividade da proteína MAP, e sua hiperativação pode afetar a função mitocondrial (MOORE et al., 2005).

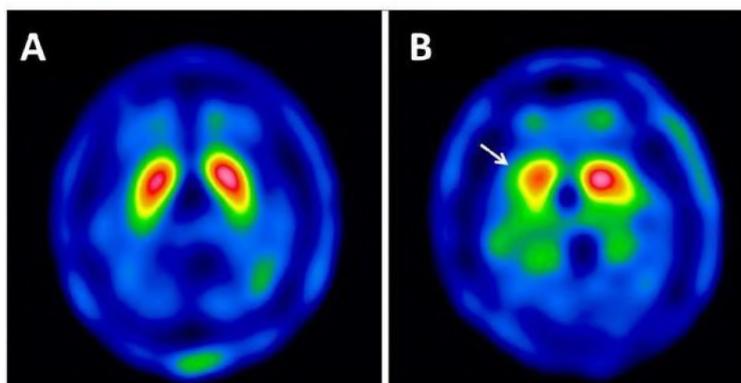
### 3.8 Diagnóstico

O início da doença é mais difícil de se diagnosticar por conta da sutileza do aparecimento dos sintomas e causa dificuldades particularmente nos idosos, pois o envelhecimento pode causar alguns problemas semelhantes aos da doença de Parkinson, como a perda de equilíbrio, movimentos lentos, rigidez muscular e postura curvada (MASSANO; BHATIA, 2012). O diagnóstico basicamente é feito com base na história clínica do paciente e exames neurológicos de imagem. Entre os métodos mais utilizados para a avaliação física está o uso de escalas. A mais utilizada é a Escala de Hoehn & Yahr (H & Y – *Degree of Disability Scale*) foi criada pelos pesquisadores Margareth Hoehn e Melvin Yahr em 1967 para avaliar os estágios evolutivos da DP. É a escala mais utilizada atualmente e é dividida em 5 estágios principais que dá uma ideia geral da progressão dos sintomas motores e perda da capacidade funcional (TUMAS, 2018).

Uso de exames de imagem como RM convencional, RM por Espectroscopia de Prótons, estão empregados para acompanhamento e detecção. Ressonância Magnética (RM) convencional: é um método relativamente simples, acessível e de menor custo em relação a outros métodos funcionais, permite a avaliação de estruturas fundamentais na fisiopatologia da DP. Também pode estar empregado no diagnóstico a RM por Espectroscopia de Prótons (PEREIRA; VARELLA et al., 2018). Além destes, métodos de imagem mais sensíveis podem ser empregados para auxiliar na detecção de DP como: Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET) (OLIVEIRA; PEREIRA, 2017) e a Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton Único (SPECT) associada com Medicina Nuclear - Cintilografia. A DP ocorre pela diminuição da atividade dopaminérgica resultando em uma menor densidade do DAT. Essa redução vai de 40 a 60%, chegando a 90% com a evolução da doença. A concentração da densidade do DAT é uma das formas mais úteis tanto para o diagnóstico precoce quanto para diferenciar de outras doenças (SIDEROWF; NEWBERG; CHOU, 2005). Na década de 90 vários estudos de radiotraçadores começaram a ser desenvolvidos, ao longo dos anos foi se confirmando sua eficiência e sensibilidade. A Cintilografia

permite a ligação do radiotraçador [99mTc]-TRODAT1(fármaco marcado com um radioisótopo) com o DAT faz com que seja possível avaliar sua densidade. A associação com SPECT permite discriminar pacientes com DP de controles saudáveis com alta sensibilidade e especificidade, mas apesar de serem eficientes no diagnóstico não se encontram tão disponíveis na rotina.

**Figura 3** - Cintilografia com TRODAT-1.



**Legenda:** Imagem de Cintilografia utilizando radiotraçador TRODAT-1. A: Cérebro normal. B: Hipoatividade dos gânglios da base.

**Fonte:** Centro Bionuclear De Diagnóstico Ltda (2017).

Pensando em exames mais acessíveis para complemento, há exames de sangue com avaliação de reação em cadeia da polimerase (PCR) para avaliar o dano ao DNA mitocondrial, biomarcadores de estresse oxidativo além da quantificação do íon Ferro (MEDEIROS, 2014)

### 3.9 Tratamento

Sabendo que a DP possui diversas vertentes em relação à causa, seu tratamento deve adequar-se à doença diagnosticada. Para que o tratamento seja iniciado de fato, o primeiro passo é identificar a causa da condição. As manifestações da DP podem ser amenizadas, mas não impossibilitam a progressão da doença, fazendo-se necessário a implantação de tratamentos alternativos (CARVALHO O.A et al 2018).

### 3.9.1 L-DOPA

A Levodopa ou L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) é um precursor da Dopamina e atualmente é o fármaco mais eficaz para o tratamento. Na biossíntese da DA é obtido por meio da descarboxilação por meio da enzima TH nos terminais pré-sinápticos dos neurônios dopaminérgicos (STANDAERT; YOUNG, 2006). As características farmacocinéticas são: rápida absorção pelo intestino delgado, a absorção depende do conteúdo gástrico pois os alimentos ingeridos competem com a droga e retardam o seu aparecimento no plasma; meia vida de uma a três horas, e infelizmente sua biodisponibilidade é baixa. Cerca de 1 a 3% chegam efetivamente ao cérebro de forma inalterada. No entanto, quando administrada com associação é melhor aproveitada pelo organismo então deve ser sempre administrada com inibidor da enzima que degrada a levodopa periféricamente (benserazida, carbidopa), a fim de aumentar sua biodisponibilidade no SNC (AMINOFF, 2006). Seu uso alivia consideravelmente os sintomas, mas à medida que a doença avança, é necessário aumentar as doses e diminuir o intervalo entre elas, pois apesar da droga trazer inúmeros benefícios pode estar associado a complicações motoras como as discinesias (movimentos involuntários e descontrolados dos membros) (CHUNG, 2010; POWE et al., 2010). Os testes com Levodopa foram feitos pela primeira vez em 1961 e os efeitos foram publicados como: pacientes acamados que não podiam nem sentar e depois do medicamento conseguiam realizar os movimentos facilmente (BIRKMAYER; HORNYKIEWICZ, 2011).

### 3.9.2 Inibidores da COMT (Catecol-O-Metiltransferase)

Entacapona: diminui sua perda metabólica através da inibição da COMT, isso faz com que mais Levodopa seja aproveitada (KUOPPAMÄKI; LEINONEN; POEWE, 2015).

### 3.9.3 Agonistas da Dopamina

Pramipexol: É um agonista do receptor D2 da DA indicado para o tratamento da DP idiopática e mais indicado para fase inicial. Estudos demonstraram que além da melhora em efeitos motores, tem efeito em sintomas como a depressão por exemplo (ANTONINI; BARONE; CERAVOLO et al., 2010).

Bromocriptina, Pergolida, Lisurida e Cabergolina: São derivados do esporão do centeio. Entretanto, uma porcentagem dos pacientes que fazem o uso de Pergolida podem ter problemas cardíacos devido a ligação agonista nos receptores das valvas (BIE et al., 2020).

Amantadina: Inicialmente utilizado como antiviral, essa medicação tem boa atividade dopaminérgica, aumenta a liberação de dopamina e é eficaz em 2/3 dos pacientes. Posologia habitual é de 100 mg duas vezes ao dia, mas costuma haver boa tolerância em doses até 300 mg/dia, apesar de poderem causar alucinações em fases mais avançadas da doença, as quais regredem com a redução da dose (HOMAYOUN, 2018).

Estudos estão sendo feitos com canabinóides exógenos, que também demonstraram um potencial efeito de neuroproteção e, mais recentemente, foi dada atenção especial às propriedades antioxidantes descritas para alguns compostos canabinóides. Por exemplo, o  $\Delta(9)$ -tetrahydrocannabinol (THC), o principal constituinte psicoativo da Cannabis, promove a redução da morte de neurônios dopaminérgicos e reverte o decréscimo na transmissão dopaminérgica nos núcleos da base de ratos lesionados pela 6-OHDA (LASTRES et al., 2005).

#### 3.9.4 Cirurgia - Estimulação Cerebral Profunda

A ECP é uma técnica desenvolvida nos anos 80 que vem ganhando muito destaque no tratamento da DP, mas que ainda tem muita desinformação acerca dos riscos e benefícios do tratamento. É baseada na introdução de eletrodos que podem ser uni ou bilateral por meio de uma cirurgia pouco invasiva em regiões profundas do encéfalo como os gânglios da base (na maioria das vezes é colocado no núcleo subtalâmico) a fim de causar uma neuromodulação. Na DP a redução progressiva da DA faz com que o funcionamento do núcleo fique alterado e reduzido. A estimulação do núcleo subtalâmico produz pequenos impulsos elétricos que visam restabelecer a função dessa área. Essa técnica melhora significativamente a qualidade de vida do paciente, desde a DP mais inicial até a fase mais grave (CUSTÓDIO et al., 2020).

### 3.9.5 Terapias que podem ser combinadas com a medicação

A fisioterapia é uma das terapias focadas complementares à medicação dopaminérgica e está associada à melhora dos sintomas motores como marcha e redução das quedas. O treinamento funcional está entre as alternativas de Terapia o qual inclui prática de exercícios para várias articulações beneficiando força muscular, flexibilidade e agilidade (KEUS, 2004). Também pode ser adotado o Yoga (fortalecimento, flexibilidade), dança de baixo impacto (facilita áreas de ativação dos movimentos) e musicoterapia também pode ser empregada para a elevação da autoestima (PEREIRA et al., 2019; EDINOFF et al., 2020). A psicoterapia é indicada para aqueles que estão em fase mais avançada do Parkinson, visto que a depressão é um dos sintomas não motores e está presente em muitos portadores (ASSOCIAÇÃO BRASIL PARKINSON, 2011).

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dado o aumento cada vez mais significativo em ocorrências de Parkinson relacionados ao envelhecimento e estilo de vida, é de suma importância o diagnóstico e tratamento precoce. Vários casos são diagnosticados pelos métodos comuns de imagem e avaliação física, mas tendo em vista os casos idiopáticos, e os inúmeros estudos relacionados com a epigenética, deveria se incluir na rotina exames de sangue para medição de atividade de enzimas antioxidantes, marcadores de estresse oxidativo além da medição de metais pesados. A adição dos exames com esses componentes é imprescindível para ajudar no descarte das diversas formas de DP, e iniciar o tratamento correto, visto que ele diverge em vários tipos de parkinsonismo.

## REFERÊNCIAS

AMINOFF, M.J. **Tratamento farmacológico do Parkinsonismo e de outros distúrbios do movimento.** In KATZUNG, Bertram G. Farmacologia Básica & Clínica. 9 ed. Rio de Janeiro, RJ Koogan, p. 375-386, 2006.

ANGELOPOULOU, E; PAUDEL, YN; PAPAGEORGIU, SG; PIPERI, C. **Impacto Ambiental nos Mecanismos Epigenéticos Subjacentes à Patogênese da Doença de Parkinson: Uma Revisão Narrativa.** Ciência do cérebro. 2022

ANTONINI, A., BARONE, P., CERAVOLO, R. et al. **Papel do Pramipexol no Tratamento da Doença de Parkinson.** CNS Drugs 24 , 829–841, 2010.

ASSOCIAÇÃO BRASIL PARKINSON (ABP). **Psicologia na Doença de Parkinson**, 2011.

BADANJAK, K.; FIXEMER, S.; SMAJIC S.; SKUPIN, A.; GRUNEWALD, A. **A contribuição da Microglia para a neuroinflamação na doença de Parkinson**. *Internacional J. Mol. Ciência*. 2021.

BARBOSA, E. R.; SALLEM, F. A. S. **Doença de Parkinson: Diagnóstico**. *Revista Neurociências*, 13(3), 158–16, 2005.

BERARDELLI A; WENNING G.K; ANTONINI A; BERG D; BLOEM B.R; BONIFATI V, et al. **EFNS/MDS-ES Recommendations for the diagnosis of Parkinson 's disease**. *Eur J Neurol*. Jan, 2013.

BIE, R.M.A; CLARKE, C.E; ESPAY, A.J; FOX, S.H; LANG, A.E. **Initiating pharmacotherapy in early Parkinson's disease**. *The Lancet Neurology*, v.19, p. 643-644, 2020.

BIRKMAYER, W; HORNYKIEWICZ, O. **The effect of L-3,4-dihydroxyphenylalanine (=L-DOPA) on akinesia in Parkinsonism**. 77:1416-1417. *Neurology*, 2011.

BONIFATI V; OOSTRA B. A, HEUTINK . **Linking DJ-1 to neurodegeneration offers novel insights for understanding the pathogenesis of Parkinson 's disease**. *J Mol Med (Berl)*. 82(3):163-74, Mar, 2004.

BORTOLATO M; CHEN K; SHIH J.C. **Monoamine oxidase inactivation: from pathophysiology to therapeutics**. *Adv Drug Deliv Rev*. Oct-Nov 2008.

CABREIRA,V; MASSANO, J. **Doença de Parkinson, revisão clínica e atualização**. *Acta Médica Portuguesa*, v.32, n.10, p.661-670, 2019

CALABRESI, P., PICCONI, B., TOZZI, A. et al. **Vias diretas e indiretas dos gânglios da base: uma reavaliação crítica**. *Nat Neurosci* 17 , 1022-1030 2014.

CAMPELO L.C.C; C. FERNANDA et al. **Variantes no gene SNCA estão associadas ao risco da Doença de Parkinson e sintomas cognitivos em uma amostra brasileira**. *Aging Neurosci*. Jun, 2017.

CARVALHO O.A et al. **Exercício físico para a Doença de Parkinson: evidência clínica e experimental**. *Clin Pract Epidemiol Ment Health*, 30 mar, 2018.

CHARLEEN T CHU. **Um papel fundamental para PINK-1 e autofagia no controle de qualidade mitocondrial: implicações para a Doença de Parkinson**. *Hum Mol Genet*, abril, 2010.

CHI,M.;AMARO,E.;BALLALAI,H.;QUEIROZ,M.;OLIVEIRA,F.;WAGNER,J.;FU,L.;KAI, Y.;JESUS,J.;LUIZ,A.;TUFIK,S.;AFFONSECA, R.**Neuroimagem do transportador de dopamina na doença de Parkinson: primeiro estudo com [99mTc]-TRODAT1**

e **SPECT no Brasil**. Arq. Neuro-Psiquiatr. 64 (3a) Set, 2006.

CHUNG S.J; ARMASU; S.M; ANDERSON K.J; BIERNACKA J.M; LESNICK T.G; RIDER D.N; CUNNINGHAM J.M; AHLKOG J.E; FRIGERIO R; MARAGANORE D.M . **Genetic susceptibility loci, environmental exposures, and Parkinson's disease: a case control study of gene-environment interactions**. Parkinsonism Relat Disord, p. 595-599, 2013.

CONCEIÇÃO, R.N.S; PEREIRA A.B,C,N,G. **Análise Epidemiológica das internações hospitalares de pacientes com a Doença de Parkinson nos últimos 5 anos nas regiões**. Editora da Universidade de Vassouras, 2022.

CORREIA, M. G. S; PAIXÃO, A. O; JESUS, A. V. F; SILVA, F. S.; MESSIAS, G. M. S.; NUNES, T. L. G. M; SANTOS, T. B; GOMES, M. Z. **Doença de Parkinson: uma desordem neurodegenerativa**. Caderno de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde - UNIT - SERGIPE, [S. I.], v. 1, n. 2, p. 57–65, 2013.

CREIGHTON, S. D; STEFANELLI, G.; REDA, A.; ZOVKIC, I. B. **Mecanismos Epigenéticos de Aprendizagem e Memória: Implicações para o Envelhecimento**. Int. J. Mol. ciência 2020.

CUSTÓDIO, C.B de S.; HASHIGUCHI, M.C; DE CARVALHO, J.J.V; TENANI, F.F; ASSUNÇÃO, LR; SIQUEIRA, L.E; DE OLIVEIRA, B.R.F. **Estimulação Cerebral Profunda no Tratamento da Doença de Parkinson: Revisão de Literatura / Estimulação Cerebral Profunda no Tratamento da Doença de Parkinson: Revisão da Literatura**. Revista Brasileira de Saúde , [S. I.] , v. 3, n. 6, p. 17254–17258, 2020.

DAWSON, T.M, and VALINA L DAWSON. **“The role of parkin in familial and sporadic Parkinson's disease.”** Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society vol. 25 Suppl, 2010.

D.R.P NUNES. **A epigenética como nova hipótese etiológica no campo psiquiátrico contemporâneo**.

DEICHMANN, U. **“Epigenetics: The origins and evolution of a fashionable topic.”** Developmental biology vol. 416,1, 2016.

DRUGBANK. **Dopamine**, jul, 2015.

EDINOFF, A; SATHIVADIVEL, N; MCBRID; PARKER, A; OKEAGU KAYE, A.D et al. **Chronic Pain Treatment Strategies in Parkinson's Disease**. Neurology international, v.12, n.3, p. 61-73, 2020.

FELICIO, A.C. **Doença de Parkinson: Papel da neuroimagem molecular do transportador de dopamina nos casos de dúvida diagnóstica**. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, 2011.

FENG, Y; JANKOVIC, J.; WU, Y.C. Mecanismos epigenéticos na doença de Parkinson. J. Neurol. ciência, p. 3-9, 2015.

FERREIRA G. A. **Estimulação cerebral profunda.** Acta Med Port Sep/Oct;27(5):641-648, 2014.

FERREIRA M; MASSANO J. **An updated review of Parkinson's disease genetics and clinicopathological correlations.** Acta Neurol Scand. p. 135-273, 2017.

FIGUEIREDO, L. S. **Papel do sistema ubiquitina-proteassoma na formação da memória e suas alterações em um modelo de disfunção cognitiva associada ao acúmulo cerebral de ferro.** Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. 2015.

FLAMES, N; HOBERT, O. **Transcriptional Control of the Terminal Fate of Monoaminergic Neurons.** 34:153-184, Jul, 2011

FRANCIS, R.C. **Epigenética- Como a ciência está revolucionando o que sabemos sobre hereditariedade.** Rio de Janeiro, Zahar, Ed. Digital, 2015.

FUENTES, D. **Neuropsicologia: Teoria e Prática.** Ed 2, p 53-56, 2014.

GUZMAN, J. N, ILIJIC, E., YANG, B., SANCHEZ-PADILLA, J., WOKOSIN, D., GALTIERI, D et al. **O tratamento sistêmico com isradipina diminui o estresse oxidativo mitocondrial dependente de cálcio.** J. Clin, 2018.

HASTINGS, J; OWEN, G; DEEKER, A; ENNIS, M; KALE, N; MUTHUKRISHNAN, V; TURNER, S; SWAINSTON, N; MENDES, P; CHRISTOPH STEINBECK. **Improved Services and an expanding collection of metabolites.** Nucleic Acids Researc, v. 44, p. D1214-D1219. ChEBI, 2016.

H.B FERRAZ. **Agonistas Dopaminérgicos no tratamento da Doença de Parkinson.** Revista Neurociências v.12, 2004.

HEALY, DG, FALCHI, M., O'SULLIVAN; S. S, BONIFATI, V;DURR, A; BRESSMAN, S., et al. **Fenótipo, genótipo e penetrância genética mundial da doença de Parkinson associada a LRRK2: um estudo de caso-controle.** Lancet Neurol. 7, 583–590, 2008

HMDB - **Human Metabolome Database.** Dopamine, jul 2020.

HOMAYOUN, HOUMAN. **"Parkinson Disease."** Annals of internal medicine vol. 169,5, 2018.

HOZUMI, I et al. **Patterns of levels of biologicals metals in CSF differ among neurodegenerative diseases.** Journal of the Neurological Sciences, p.95-99, 2011.

INZELBERG, R., ESTRADA-CUZCANO, A., LAITMAN, Y., DE VRIENDT, E., FRIEDMAN, E. e JORDANOVA. **A Síndrome de Kufor-Rakeb/PARK9: uma nova e uma possível mutação Ashkenazi Atp13A2 recorrente.** Doença de J. Parkinson. 8, 399-403, 2018.

J. M SHULMAN , P.L De JAGER , M. B FEANY. **Doença de Parkinson: genética e patogênese.** Ann Rev Pathol Mech Dis , 6 , p.93-222, 2011.

KANDEL E. R, DUDAI Y, Mayford MR. The molecular and systems biology of memory. Cell. 27;157(1):163-86, Mar, 2014.

KEUS, SAMYRA H.J et al. "**Physiotherapy in Parkinson's disease: utilisation and patient satisfaction.**" Journal of neurology vol. 251,6, 2004.

KRACK, PAUL et al "**Five-years Follow-up of bilateral stimulation of the subthalamic nucleus in advanced Parkinson's disease.**" The New England journal of medicine vol. 349,20 2003.

KURITA, H et al. **Al (3+) interaction sites of calmodulin and the Al(3+) effect on target binding of calmodulin.** Biochemical and Biophysical Research Communications, 333 (4): 1060-1065, 2005.

KUOPPAMÄKI M; LEINONEN M; POEWE W. **Efficacy and safety of entacapone in levodopa/carbidopa versus levodopa/benserazide treated Parkinson's disease patients with wearing-off.** J Neural Transm (Vienna). Dec;122(12):1709-14. 2015

LASTRES-BECKER I, MOLINA-HOLGADO F, RAMOS J. A, MECHOULAM R, FERNÁNDEZ-RUIZ J. **Cannabinoids provide neuroprotection against 6hydroxydopamine toxicity in vivo and in vitro: relevance to Parkinson's disease.** Neurobiol Dis. 19(1-2):96-107, 2005.

L.M.L de LAU; BRETELER, M.M.B - **Epidemiology of Parkinson 's disease.** Lancet Neurology, v.5, p. 525-535, jun. 2006.

MARQUES, S, C.; OLIVEIRA, C.M.; OUTEIRO, T. **Epigenetics in neurodegeneration; a new layer of complexity.** Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry, 35, 348-355, 2011.

MASLIAH, E.; DUMAOP, W.; GALASKO, D.; DESPLATS, P. **Padrões distintos de metilação do DNA associados à doença de Parkinson: Identificação de alterações epigenéticas concordantes no cérebro e leucócitos do sangue periférico.** Epigenética 2013.

MASSANO J; BHATIA K.P. **Clinical approach to Parkinson's disease: features, diagnosis, and principles of management.** Cold Spring Harb Perspect Med. 2012.

MATA, I. F, LOCKHART, P.J e FARRER, MLJ. **Genética de Parkin: um modelo para a doença de Parkinson.** Zumbir. Mol. Genet. 13, R127–R133, 2004.

MATSUMOTO, LUMINE, et al. "**A desmetilação CpG aumenta a expressão da alfa-sinucleína e afeta a patogênese da doença de Parkinson**". PloS um 5.11, 2010.

MEDEIROS, M.S. **Associação entre metabolismo do Ferro e estresse oxidativo**

**em pacientes com Doença de Parkinson.** Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina, 2014.

MEREDITH, G. E et al. **“The structural basis for mapping behavior onto the ventral striatum and its subdivisions.”** Brain structure & function vol. 213,1-2, 2008

MIGLIORI, L.; COPPEDE, F. **Genética, fatores ambientais e o papel emergente da epigenética nas doenças neurodegenerativas.** Mutações. Res. p. 82–97, 2009.

MOORE D.J; WEST A.B; DAWSON T. **Molecular pathophysiology of Parkinson's disease.** Annu Rev Neurosci. 28: 57-8, 2005.

NOGUEIRA DOS SANTOS DA CONCEIÇÃO, R.; CALMON NOGUEIRA DA GAMA PEREIRA, A. B. **Análise Epidemiológica de pacientes com doença de Parkinson nos últimos 5 anos nas regiões brasileiras.** Revista de Saúde, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 61–66, 2022.

OBESO, J.A.; RODRIGUES-OROZ, M.C.; RODRÍGUEZ, M.; ARBIZU, J.; GIMÉNEZ-AMAYA, J. M. **The basal ganglia and disorders of the movement: pathophysiological mechanisms.** News Physiol. Sci., v. 17, p. 51-55, 2002.

OLIVEIRA, L.H.D.D; MELO, A.T; B.E de. **O potencial uso dos inibidores da proteína transportadora de dopamina no tratamento de transtornos neuropsiquiátricos.** Brazilian Journal of Health Review, v. 4, n. 3, p. 12105-12128, 2021.

OLIVEIRA, R.V; PEREIRA, J.S. **O papel da ressonância magnética por difusão na Doença de Parkinson é no diagnóstico diferencial com Parkinsonismo atípico.** Radiologia brasileira, v.50, n.4, p 250-257, 2017.

PALSON H.L; STERN B.M. **Clinical Manifestations of Parkinson's Disease.** In Watts RL, Koller WC. Movement Disorders Neurologic Principles and Practice. New York: MacGraw, p 223-246, 2004.

PANG, SY; HO, PW; LIU, HF; LEUNG, CT; LI, L.; CHANG, EES; RAMSDEN, DB; HO, SL **A interação entre envelhecimento, genética e fatores ambientais na patogênese da doença de Parkinson.** Trad. Neurodegenerador. 2019.

PARIS I; LOZANO J; PEREZ-PASTENE C; MUNOZ P, SEGURA-AGUILAR J. **Molecular and neurochemical mechanisms in PD pathogenesis.** Neurotox Res. Out, 2009.

PAVLOU, M.A.S; OUTEIRO, T.F. **Epigenética na Doença de Parkinson.** Av. Exp. Med. Biol. , p. 363–390, 2017.

PEREIRA,A.P.S; MARINHO, V; GUPTA,D; MAGALHÃES, F; AYRES, C; TEIXEIRA, S. **Music Therapy and Dance as Gait Rehabilitation in Patients with Parkinson's disease.** A review of evidence. Journal of Geriatric psychiatry and neurology, v.32, n.1, p. 49-56, 2019.

PEREIRA S.J; VARELLA R et al. **Perfil clínico e aspectos da espectroscopia por Ressonância magnética na progressão da Doença de Parkinson em pacientes ambulatoriais: abordagem descritiva preliminar.** Revista HUPE p. 6-12, 2016.

PETERNELLA, F. M. N.; MARCON, S. S. **Descobrimos a Doença de Parkinson: impacto para o parkinsoniano e seu familiar.** Revista Brasileira de Enfermagem, Brasília, v. 62, n. 1, p. 25-31, 2009.

PIEPER, HC; EVERT, BO; KAUT, O.; RIEDERER, PF; WAHA, A.; WULLNER, U. **Metilação diferente do promotor TNF-alfa no córtex e na substância negra: Implicações para a vulnerabilidade neuronal seletiva.** Neurobiol. Dis. p. 521–527, 2008.

RAMIREZ, A., HEIMBACH, A., GRÜNDEMANN, J., STILLER, B., HAMPSHIRE, D., CID, L., et al. **O parkinsonismo hereditário com demência é causado por mutações no ATP13A2, que codifica uma Atpase lisossômica tipo 5 P.** Nat. Genet. 38, 2006.

RANGEL-BARAJAS, CLAUDIA et al. **“Dopamine Receptors and Neurodegeneration.”** Aging and disease vol. 6,5 349-68. 1 Oct. 2015.

REIMÃO, S. et al. **Substantia nigra neuromelanin magnetic resonance imaging in de novo Parkinson 's patients.** European Journal of Neurology, v.22, p.540-546, 2014.

SIDEROWF, A et al. **“A imagem [99mTc]TRODAT-1 SPECT se correlaciona com a identificação de odores no início da doença de Parkinson.”** Neurologia vol. 64,10, 2005.

SILBERMAN, C.D; LAKS J; RODRIGUES C.S; ENGELHARDT E. **Uma revisão sobre depressão como fator de risco na Doença de Parkinson e seu impacto na cognição.** Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul 26, 52-60, 2004

SILVA, T.P. ; CARVALHO, C. R. A. **Doença de Parkinson: o tratamento terapêutico ocupacional na perspectiva dos profissionais e idosos.** Caderno Brasileiro de Terapia Ocupacional, [s.l.],v.27.n.02,p.331-344,2019.

SINGHAL NK , SRIVASTAVA G , PATEL DK , et al. **Melatonina ou silimarina reduz o fenótipo da doença de Parkinson induzida por maneb e paraquat no camundongo.** J. Pineal Res. p;50 : 97 – 109, 2011.

SPENCER, W.A, et al. **Oxidatively generated DNA damage after Cu(II) catalysis of dopamine and neurotransmitters and neurotoxins: role of reactive oxygen species.** Free Radical Biology and Medicine, p. 139-147, 2011.

STANDAERT D.G; YOUNG, A.B. **Tratamento dos distúrbios degenerativos do sistema nervoso central.** In: BRUNTON, L; LAZO, J.S; PARKER, K.L. Goodman & Gilman - As bases farmacológicas da terapêutica. 11 ed. Rio de Janeiro, RJ: Mc Graw Hill, p. 469-486, 2006

SURMEIER, DJ, GUZMAN, JN, SANCHEZ-PADILLA, J. e SCHUMACKER, PT. **O papel do cálcio e do estresse oxidante mitocondrial na perda de neurônios dopaminérgicos da substância nigra pars compacta na doença de Parkinson.** Neurociência 198, 221-231, 2011.

TUMAS, V. **Fisiopatologia dos gânglios da base.** Departamento de Neurociências e Ciências do. Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 2018.

TYSNES, O.B , STORSTEIN, A. **Epidemiology of Parkinson's disease.** J Neural Transm (Vienna). 124(8):901-905, 2017.

VANDUYN, N et al. **The metal transporter SMF-3/DMT-1 mediates aluminuminduced dopamine neuron degeneration.** Journal of Neurochemistry, p. 147-157, 2013.

VAN HEESBEEN H.J; MESMAN, S; VEENVLIET J.V; SMIDT, M.P. **Mecanismos epigenéticos no desenvolvimento e manutenção de neurônios dopaminérgicos.** Desenvolvimento, p. 1159–1169, 2013.

VARRONE A; CHRISTER H. **Imagem molecular do transportador de dopamina.** Journal of Nuclear Medicine, 51 (9) 1331-1334. Set, 2010.

WAKABAYASHI K. **[Lewy body formation in Parkinson's disease: neurodegeneration or neuroprotection?].** Rinsho Shinkeigaku. Nov;48(11):981-3. Japanese, 2008.

WERNECK, A.L. **Doença de Parkinson: etiologia, clínica e terapêutica.** Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto, 2010.

WIRDEFELDT, KARIN et al. **“Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence.”** European journal of epidemiology vol. 26 Suppl 1 (2011): S1-58. doi:10.1007/s10654-011-9581-6.

WISHART, D.S. et al. HMDB 4.0 - **The Human Metabolome** Database for 2018. Nucleic Acids Research, v. 46, n. D1, p. D608-D617, 2018.

YSHII. L.M. **Efeitos da Alfa-sinucleína na Modulação da atividade do fator de transcrição nuclear kB em células SH-SY5Y** [tese (Doutorado de Farmacologia)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2011.

# ACÇÕES PLEIOTRÓPICAS DA PROLACTINA NO ORGANISMO FEMININO

## PLEIOTROPIC ACTIONS OF PROLACTIN IN THE FEMALE BODY

Maria Eduarda Monarin Ramos<sup>1</sup>

Milene Leivas Vieira<sup>2</sup>

Alberto Yoichi Sakaguchi<sup>3</sup>

### RESUMO

A prolactina (PRL) é um hormônio produzido pela adeno-hipófise, podendo, também, ser secretado por outros sistemas e diversas partes do corpo. A sua inibição é mediada, sobretudo, pelo hormônio inibidor da prolactina (PIH), que faz o seu controle, por sua alta ou baixa concentração no organismo poder desregular a homeostase e o equilíbrio deste, e, principalmente, por apresentar disponibilidade dos seus receptores (PRLR) em várias partes do corpo, incluindo órgãos e células do sistema imunológico. Objetivando uma abordagem acerca do organismo feminino, que permite uma alta concentração desse hormônio, e considerando a sua relação direta a mamogênese, ao desenvolvimento embrionário e a lactação, o presente artigo traz uma revisão bibliográfica, de caráter narrativo, fundamentado nas bases de dados Pubmed, Wiley Online Library, Springer, Frontiers Semantic Scholar, Oxford Academic e Science Direct, buscando como descritores principais: Prolactin, PRL e Pituitary peptides, a fim de traçar um delineado de sua interferência sobre o corpo da mulher. Dessa forma, tem-se a evidência de que a PRL possui uma abrangente interferência no equilíbrio hídrico e eletrolítico, no metabolismo, bem como na área comportamental, de reprodução, imunorregulação e proteção, da mesma forma que a presença de desequilíbrios na secreção desse hormônio está associada às diversas doenças, podendo ser citadas como esclerose múltipla, cânceres, doenças autoimunes e hiperprolactinemia/hipoprolactinemia. Portanto, a PRL desempenha um papel essencial na saúde e na doença, afetando uma ampla gama de funções e sistemas no organismo feminino.

**Palavras-chave:** adeno-hipófise; hipotálamo; homeostase; fisiologia; hormônio.

### ABSTRACT

Prolactin (PRL) is a hormone produced by the anterior pituitary gland and can also be secreted by other systems and different parts of the body. Its inhibition is mediated chiefly by the prolactin inhibitor hormone (PIH), which is related by its control, due to its high or low concentration in the body, that can deregulate homeostasis and its balance and mainly due to the availability of its receptors (PRLR) in many parts of the

<sup>1</sup> Graduanda do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia – Unifil.  
madumonarin@outlook.com

<sup>2</sup> Coorientador: Docente Titular do Curso de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUCPR. mileneleivas@hotmail.com

<sup>3</sup> Orientador: Docente Titular do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia – Unifil.  
alberto.sakaguchi@unifil.br

body, including organs and cells of the immune system. Aiming at an approach to the female organism, which allows a high concentration of this hormone, and considering its direct relationship to mammogenesis, embryonic development and lactation, this paper brings a bibliographical review of a narrative nature, based on the Pubmed databases, Wiley Online Library, Springer, Frontiers Semantic Scholar, Oxford Academic and Science Direct, searching as main descriptors: prolactin, PRL and Pituitary peptides, in order to outline their interference on the woman's body. Thus, there is evidence that PRL has a comprehensive interference in water and electrolyte balance, metabolism, as well as in the behavioral, reproduction, immunoregulation and protection areas, in the same way as the presence of imbalances in the secretion of this hormone is associated by several diseases, such as multiple sclerosis, cancer, autoimmune diseases and hyperprolactinemia/hypoprolactinemia. Therefore, PRL plays an essential role in health and disease, affecting a wide range of functions and systems in the female body.

**Keywords:** adenohipophysis. hipotálamus. homeostasis. physiology. hormone.

## 1 INTRODUÇÃO

A prolactina (PRL) é um hormônio neuropeptídeo sintetizado na hipófise, apresentando também uma produção nos sistemas nervoso central (SNC) e imunológico, no útero, ovários, endométrio, assim como nas células hematopoiéticas (como linfócitos), pele, tecido adiposo, timo, sistema linfático, endotélio e cérebro (SAMPERI; LITHGOW; KARAVITAKI, 2019), tendo as suas ações biológicas relacionadas a vários comportamentos, o que acarreta no papel metabólico e na homeostase (LOPEZ-VICCHI *et al.*, 2020).

Com isso, nos últimos anos, a PRL emergiu quanto ao seu papel metabólico (PIRCHIO *et al.*, 2022), pois, além de atuar como hormônio endócrino, também funciona como adipocina e atua nos adipócitos para modular a adipogênese, o metabolismo lipídico e a inflamação (CHIEN; CHEN; LI, 2023), da mesma forma que apresenta múltiplas outras atribuições (SILVERTHORN, 2017).

E, historicamente, a PRL é responsável pelo desenvolvimento final e funcional da glândula mamária, bem como pela lactação no corpo da mulher (ATICI *et al.*, 2020), apoiando as respostas reprodutivas fisiológicas. Além disso, os efeitos da PRL no sistema nervoso contribuem para uma ampla gama de alterações no cérebro feminino durante a gravidez e para a inibição do eixo hipotálamo-hipófise. Dessa forma, as adaptações cerebrais impulsionadas pela PRL também são cruciais para regular a emocionalidade e o bem-estar materno (FARON-GÓRECKA *et al.*, 2023).

Com relação aos conhecimentos sobre método de atuação e importância da

PRL no organismo, foram pertinentes os estudos de fenótipos animais, em camundongos, sem a presença do receptor da prolactina (PRLR). Embora esta informação seja essencial para a compreensão da PRL na saúde e na doença humana, as diferenças no controle da produção, distribuição e funções fisiológicas entre as espécies, faz com que se torne necessária a conversão e proporção dos resultados com cuidado e de maneira prudente para os seres humanos (BERNARD; YOUNG; BINART, 2019).

Com isso, o objetivo desta presente revisão é levantar informações a respeito dos efeitos da PRL, levando em consideração os possíveis impactos, dados por distúrbios na produção desta, no que diz respeito ao seu aumento ou a sua diminuição no organismo feminino. Além de avaliar no que e como esses aumentos ou diminuições podem afetar na função e na regulação da homeostase no corpo das mulheres.

## 2 METODOLOGIA

O presente trabalho corresponde a uma revisão bibliográfica de caráter narrativo, que diz respeito à análise de artigos relacionados ao papel da prolactina no organismo feminino. Para isso, foram utilizadas as plataformas de artigos denominadas Pubmed, Wiley Online Library, Springer, Frontiers Semantic Scholar, Oxford Academic e Science Direct. A seleção de buscas na barra de pesquisa se deu através das palavras-chave “Prolactin”, “PRL” e “Pituitary peptides”, utilizando os operadores boleados *and* ou *or*, quando necessário.

A pesquisa dos artigos se deu no período entre os anos de 2008 a 2023, que compunham informações acerca do papel da prolactina, bem como o seu mecanismo de ação, com o enfoque primordial da literatura em seu efeito no organismo feminino, de acordo com a sua atuação com diferentes receptores presentes em locais distintos do corpo feminino. Os resumos dos artigos foram utilizados como base para selecionar os que mais se adequam aos objetivos da revisão de literatura, compondo assim, o acervo de leitura principal deste, que contém a exposição ordenada e pormenorizada do assunto tratado.

Foram incluídos estudos em humanos e animais, com distinção de gênero, considerando as informações obtidas dos efeitos da prolactina no organismo da mulher e excluídos os artigos de revisão bibliográfica e trabalhos que não estavam

devidamente relacionados à ação da prolactina no organismo feminino, com uma perspectiva de atuação do hormônio distorcida para o trabalho em questão.

### 3 DESENVOLVIMENTO

A PRL é produzida e secretada, principalmente, pelas células lactotróficas, presentes na adeno-hipófise, que formam uma rede, permitindo que a liberação hormonal seja ajustada quando há estimulação repetida, como observado em um estudo de Hodson e colaboradores (2012). Contudo, também pode apresentar uma produção provinda do sistema nervoso central (SNC) e do sistema imunológico (como das células representadas pelos tímócitos e as mononucleares) (DÍAZ *et al.*, 2011). Da mesma forma que provém do útero, ovários, endométrio, das células hematopoiéticas (como os linfócitos), bem como da pele, tecido adiposo, timo, sistema linfático, endotélio, cérebro (SAMPERI; LITHGOW; KARAVITAKI, 2019) e cóclea no ouvido (MARANO; BEN-JONATHAN, 2014). A expressão de prolactinas hipofisárias e extra-hipofisárias é regulada de maneira diferente, contudo, são produtos do mesmo gene. As estruturas primária, secundária e terciária são as mesmas e se ligam aos mesmos receptores (MARANO; BEN-JONATHAN, 2014).

Como a PRL não atua em um tecido alvo endócrino, ela não possui a via de feedback para regular sua secreção, em vez disso, esse hormônio é regulado por feedback de circuito curto, denominado retroalimentação negativa de alça curta, dado como uma resposta a um estímulo, que tende a reduzir ou inibir a sua intensidade, se apresentando como um mecanismo de regulação que ocorre rapidamente para manter um sistema ou processo em equilíbrio, ou dentro de faixas saudáveis e estáveis, quando exposto a mudanças em variáveis fisiológicas, auxiliando na regulação de funções vitais no organismo (SILVERTHORN, 2017).

Com isso, a própria PRL age no cérebro para estimular a produção de dopamina, que é secretada no sangue portal hipofisário (GRATTAN; KOKAY, 2008) e, assim, inibe a sua própria secreção, ativando os neurônios de via dopamina tuberoinfundibular (TIDA), aumentando sua liberação de dopamina que acessa a hipófise, através da eminência mediana e do sistema sanguíneo hipotálamo-hipófise, para suprimir ainda mais a sua secreção (GRATTAN, 2015).

A dopamina refere-se a uma catecolamina e os seus efeitos inibitórios na secreção da PRL são exercidos através dos receptores D2 da dopamina (DRD2)

localizados na superfície das células lactotróficas (BERNARD *et al.*, 2018), podendo diminuir a sua liberação em até 10 vezes (GUYTON; HALL, 2017).

De acordo com Silverthorn (2017), a secreção da PRL é controlada pelo hormônio inibidor da prolactina (PIH), secretado pelo hipotálamo, que, geralmente, é a região que estimula a produção e secreção de hormônios tróficos e, em muitos estudos, citado e relacionado ao neuro-hormônio dopamina, que se associa a adrenalina e a noradrenalina.

Portanto, o comprometimento do hipotálamo ou o bloqueio do sistema portal hipotalâmico-hipofisário geralmente aumenta a secreção de PRL, enquanto que, há uma depleção da secreção dos hormônios hipofisários, citados como hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), hormônio do crescimento (GH), hormônio estimulador da tireoide (TSH), hormônio folículo-estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH) (PARK *et al.*, 2011).

Da mesma forma, a endotelina 3, transformador beta (TGF- $\beta$ ) e interferon gama (IFN- $\gamma$ ) apresentam como característica inibir a secreção de PRL (RAMOSMARTINEZ *et al.*, 2022). E esse controle é feito para que não haja, com frequência, a liberação desnecessária do hormônio da PRL em nosso organismo, considerando que a sua alta concentração pode resultar na desregulação da homeostase (GUYTON; HALL, 2017).

Em contrapartida, outros hormônios e neuropeptídeos podem promover a liberação de PRL, como o hormônio liberador de tireotropina (TRH), os opioides endógenos, ocitocina, serotonina, vasopressina, polipeptídeo intestinal vasoativo (VIP), neurotensina, galanina e o salsolinol (GRATTAN, 2015). Da mesma forma, o estrogênio atua estimulando a transcrição do gene da PRL (localizado no cromossomo 5) e na secreção de PRL – o que explica os níveis de PRL mais altos no sexo feminino, bem como em mulheres em idade fértil em comparação às que estão na menopausa (GRATTAN, 2015).

E, no que diz respeito ao PRLR, é um membro da família de receptores de lactogênio de citocina tipo 1, associado ao não receptor tirosina Janus quinase 2 (JAK2), que medeia múltiplas de suas ações (KAVARTHAPU; DUFAU, 2022), já que exemplifica a arquitetura de mais de 40 receptores diferentes (BUGGE *et al.*, 2016). Com relação à primeira caracterização estrutural abrangente do domínio intracelular do PRLR, é dada como, intrinsecamente, desordenada em todo o seu comprimento (BUGGE *et al.*, 2016).

O gene da PRLR, encontrado em humanos, está localizado no cromossomo 5 e consiste em 11 éxons. É uma proteína longa composta por 598 aminoácidos, tendo como característica ligar-se a pelo menos três ligantes – PRL, lactogênio placentário e GH (RIBBONS *et al.*, 2015). Essa interação é de natureza ternária e tem três interações intermoleculares referidas como sítios, que ocorrem entre a PRL e cada receptor, através da interação de domínios extracelulares de duas moléculas receptoras com dois locais assimétricos de ligação ao ligante localizado em lados opostos do núcleo do receptor (BEN-JONATHAN; LAPENSEE; LAPENSEE, 2008).

A PRL liga-se à primeira molécula receptora no sítio 1 de alta afinidade, com isso, a segunda molécula receptora liga-se ao sítio 2, fazendo com que a afinidade do local 2 aumente após a ligação do ligante no local 1 e o complexo do dímero receptor com uma molécula de PRL inicia a transdução de sinal (BEN-JONATHAN; LAPENSEE; LAPENSEE, 2008). Uma vez ativo, esse complexo ternário induz várias sinalizações que incluem o eixo JAK2-STAT3/STAT5, MAP quinase, AKT e vias Src quinase (TROJANO *et al.*, 2012).

A ativação delas pode produzir diferentes respostas celulares, o que explica, em parte, a versatilidade das ações da PRL, relatadas em alguns tecidos (HAXHOLM *et al.*, 2015). A PRL sofre algumas modificações pós-tradução, incluindo polimerização, degradação proteolítica, glicosilação e fosforilação, que afetam a sua estabilidade, ligação aos receptores e atividade biológica (BEN-JONATHAN; LAPENSEE; LAPENSEE, 2008).

Esses receptores são encontrados em tecidos envolvidos no metabolismo e na ingestão de alimentos, como pâncreas, fígado, hipotálamo, intestino delgado e tecido adiposo (LOPEZ-VICCHI *et al.*, 2020), bem como em todo o corpo (KAVARTHAPU; DUFAU, 2022), tendo a sua expressão demonstrada também em células do cérebro, retina, cartilagem, pele, pulmão, coração, baço, timo, rim, sistema reprodutivo e células do sistema imunológico, como monócitos (ZHORNITSKY *et al.*, 2013), células B, células T e macrófagos, sendo a sua sinalização ativada pela ligação da PRL a um homodímero de PRLR (ABRAMICHEVA; SMIRNOVA, 2019) e, dessa forma, os agonistas de múltiplos ligantes são capazes de se ligar ao PRLR, expandindo potencialmente a função desse receptor (ATICI *et al.*, 2020).

Com isso, a PRL se relaciona com mais de 300 funções e comportamentos (LOPEZ-VICCHI *et al.*, 2020), sendo associados tanto à saúde quanto à doença humana (BERNARD; YOUNG; BINART, 2019), que podem ser descritas como

equilíbrios hídrico e eletrolítico, crescimento e desenvolvimento, endocrinologia e metabolismo, cérebro e comportamento, reprodução e imunorregulação, bem como lactação e proteção (COSTANZA *et al.*, 2015). E essas ações biológicas (LOPEZVICCHI *et al.*, 2020), podem ser citadas quanto ao seu envolvimento na homeostase metabólica, controle do peso corporal, tecido adiposo, folículos cutâneos e capilares, assim como a sua atuação nos ossos, resposta adrenal ao estresse e ações no SNC (BERNARD; YOUNG; BINART, 2019).

Com efeito, a PRL, como hormônio sexual, é relacionada às diversas doenças e síndromes, da mesma maneira que a sua influência metabólica e regulação hormonal e imunológica corroboram para essa associação (BERNARD; YOUNG; BINART, 2019). Essas doenças podem ser citadas como Esclerose Múltipla (EM) (YSRRAELIT; CORREALE, 2018), cânceres (STANDING; DANDAWATE; ANANT, 2023), doenças autoimunes (TANG *et al.*, 2017) e Hiperprolactinemia e Hipoprolactinemia (BERNARD; YOUNG; BINART, 2019).

### 3.1 REGULAÇÃO DO CONTROLE DA LIBERAÇÃO DE PRL

Com relação à liberação da PRL, ela ocorre em um ritmo circadiano, considerando a sua concentração, como sendo mais alta durante o sono e menor durante a vigília (PRABHAKAR; DAVIS, 2008), ao mesmo tempo, elevadas quantidades da sua presença são notadas no período de ovulação do organismo feminino (CAPOZZI *et al.*, 2015). Ainda, níveis elevados desse hormônio podem estar associados ao agravamento de doenças metabólicas, da mesma forma que níveis baixos também podem ser, metabolicamente, desfavoráveis (KIRSCH *et al.*, 2022).

O exercício também é uma forma de aumentar a PRL em uma magnitude proporcional à intensidade e à duração da atividade, levando em consideração a elevação da PRL, após exercícios aeróbicos e anaeróbicos, apesar de se apresentar maior em exercícios anaeróbicos de alta intensidade (GRATTAN, 2015). Além disso, foi comprovado que qualquer tipo de estresse pode aumentar os níveis séricos de PRL, que são mais evidentes entre as mulheres, presumivelmente, devido aos níveis mais elevados de estradiol nas células lactotróficas (ARANGO *et al.*, 2016).

Da mesma forma, os níveis elevados de PRL, também, são observados em condições relacionadas à síntese nos tecidos afetados, no que diz respeito à pele, tecido adiposo, endométrio, miométrio, células imunes, cérebro e tecidos mamários

(BEN- JONATHAN; LAPENSEE, C.; LAPENSEE, E., 2008).

A hiperprolactinemia, níveis elevados de PRL, é um fenômeno natural e benéfico durante a gravidez e a lactação, no entanto, em outras situações, é associada aos distúrbios endócrinos graves, como a supressão da ovulação, o que resulta na infertilidade, pela sua inibição direta, em níveis altos de PRL, da função ovariana (FARON-GÓRECKA *et al.*, 2023), do mesmo modo, impacta no câncer metastático da mama para modular o microambiente ósseo e promover danos (ATICI *et al.*, 2020) e em demais problemas, apresentados nesse artigo.

### 3.2 EFEITO DA PRL NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E MAMOGÊNESE

A PRL desempenha um papel importante na neurogênese do cérebro materno, estimulada pela gravidez, regulando o comportamento e promovendo a adaptação materna à prole (FLORES-ESPINOSA *et al.*, 2017). E o resultado disso é observado na presença de PRLR no plexo coróide da zona subventricular – uma das áreas neurogênicas do prosencéfalo adulto, que desempenha um papel crucial na neurogênese parental, contribuindo para comportamentos adaptativos durante a gravidez (ARANGO *et al.*, 2016). Com isso, a PRL atua estabelecendo um vínculo entre a genetriz e a sua prole (BROWN *et al.*, 2017), agindo no cuidado parental que garante a sobrevivência do neonato (SILVERTHORN, 2017).

Pensando nisso, a PRL, o único hormônio que atua sobre um alvo não endócrino – a mama, (SILVERTHORN, 2017) o auxilia no seu desenvolvimento, (em conjunto com o aumento do estrogênio), no período da vigésima semana de gestação, em que produz componentes do leite e (ALEX; BHANDARY; MCGUIRE, 2020) apresenta a sua própria concentração a níveis de dez ou mais vezes maiores do que a encontrada em mulheres não grávidas (SILVERTHORN, 2017), enquanto a proporção da secreção do PIH, pelo hipotálamo, se encontra diminuída (ALEX; BHANDARY; MCGUIRE, 2020).

Dessa forma, durante a gravidez, bem como a subsequente fase de amamentação, de acordo com Gleiberman e colaboradores (2008), é percebido um aumento no número de células lactotróficas devido à proliferação celular, a transformação de células somatotróficas em lactotróficas e o crescimento de célulastronco, que se apresentam diminuídos nos meses após o parto, embora a amamentação possa retardar esse processo (KARACA *et al.*, 2010).

Por conseguinte, após o nascimento do neonato e quanto à sua amamentação, há uma diminuição rápida dos níveis de progesterona, ao mesmo tempo, que os níveis de PRL e ocitocina se apresentam elevados, devido ao aumento das concentrações séricas de estradiol (ZHANG *et al.*, 2016). Essa ampliação impulsiona a produção de leite, enquanto que, a ocitocina desencadeia um reflexo de descida, permitindo que o bebê retire o leite materno dos ductos da mãe (ALEX; BHANDARY; MCGUIRE, 2020).

A sucção do leite pelo bebê, de acordo com Silverthorn (2017) corresponde a um estímulo que atua nos mecanorreceptores do mamilo, fazendo com que uma informação sensorial seja levada para o hipotálamo, inibindo a célula produtora de PIH e, conseqüentemente, diminuindo a sua liberação no sistema porta para a adenohipófise, removendo a inibição das células produtoras de PRL, o que corresponde ao aumento da concentração dele, que atua auxiliando na ejeção de leite.

Com isso, a gestação não é necessária para a lactação, e algumas mulheres que adotam crianças conseguem amamentar com sucesso, pois a sucção é um estímulo para a liberação da PRL (SILVERTHORN, 2017). Assim sendo, a involução pós-lactacional ocorre com a cessação da produção de leite, justamente, causada pelo declínio do hormônio da PRL da mãe. Essa inibição da produção de leite, é dada por altos níveis de estrogênio e progesterona, resultando na produção do colostro (ALEX; BHANDARY; MCGUIRE, 2020).

E, no que diz respeito à outra adaptação materna, há a alteração no metabolismo da glicose e o desenvolvimento de resistência à insulina, como uma resposta fisiológica que direciona os nutrientes para o feto (Huang, 2012). E com relação ao controle homeostático, no corpo materno (HUANG; SNIDER; CROSS, 2009), há o exemplo da associação dos níveis elevados de PRL durante a gravidez, com o aumento da proliferação de células beta pancreáticas, como um mecanismo de adaptação às exigências fisiológicas nesse período (STRUTT *et al.*, 2021). A PRL possui funções relacionadas ao controle glicêmico e à homeostase nas células beta pancreáticas, aumentando a síntese de insulina, vascularização das ilhotas pancreáticas e efeitos antiapoptóticos (CAO *et al.*, 2021).

E, apesar desse curso natural, para a amamentação, apresentado pela grande maioria das mães, não é sempre que a mamogênese é dada dessa forma. Em 2018, foi relatado o primeiro caso de mutação bialélica de perda de função do PRLR, levando à resistência completa à PRL e à lactogênese puerperal (KOBAYASHI *et al.*, 2018). Nessa mulher, um aumento nos níveis circulantes de PRL foi associado à ausência

de amamentação pós-parto, consistente com os resultados do modelo de estudo em camundongos (BERNARD; YOUNG; BINART, 2019).

E, tendo em vista o aumento hormonal presente durante a gravidez, é normal que possam se fazer presentes alterações fisiológicas, incluindo débito cardíaco elevado, aumento dos níveis lipídicos, como ganho de peso, bem como alterações no estradiol, progesterona, PRL,  $\alpha$ -fetoproteína, leptina, glicocorticoides e fator de crescimento da insulina (LUQUE *et al.*, 2016).

Da mesma maneira, durante o puerpério, foi observado que o aumento dos hormônios envolvidos nos mecanismos de amamentação pode desempenhar um papel no aumento da atividade da doença da EM e essa evidência se concretizou através da análise do aumento na taxa da doença durante o terceiro trimestre, em comparação com os níveis presentes na pré-gravidez, bem como o aumento das taxas de recaída de 3 a 6 meses após o parto, para níveis quase três vezes maiores do que da pré-gravidez (YSRRAELIT; CORREALE, 2018).

### 3.3 EFEITOS METABÓLICOS DA PRL

O excesso da PRL está relacionado ao ganho de peso, obesidade, síndrome metabólica e comprometimento dos perfis glicoinsulínemico e lipídico, devido à supressão do tônus dopaminérgico fisiológico. Esses efeitos podem ser comprovados através da relação dos baixos níveis de PRL, exercendo um efeito prejudicial no ganho de peso e no metabolismo da glicose e dos lipídios, enquanto que, quando os valores de PRL se apresentam elevados, são relacionados ao aumento na atividade metabólica (PIRCHIO *et al.*, 2022). Da mesma forma, o aumento na expressão de PRLR, durante a diferenciação dos adipócitos, sugerem o seu envolvimento na regulação dos adipócitos maduros (HUGO *et al.*, 2008).

Os níveis aumentados de PRL resultam em um comprometimento da biossíntese de apolipoproteínas, aumento do colesterol total, LDL e triglicerídeos, e diminuição do colesterol HDL, juntamente com percentuais de gordura corporal mais elevados em pacientes hiperprolactinêmicos, em comparação aos controles (ZHANG *et al.*, 2018).

Além disso, a ausência desses receptores resulta em resistência à obesidade provocada por uma dieta rica em gordura devido ao aumento do gasto de energia e da taxa metabólica, o que evidencia que o PRLR afeta o equilíbrio energético e a

adaptação metabólica em roedores, através de efeitos na diferenciação e função do tecido adiposo marrom (BERNARD; YOUNG; BINART, 2019).

O PRLR interage, especificamente, com lipídeos característicos da membrana plasmática interna, através de aglomerados básicos conservados. Além disso, foi demonstrado que eles são expressos tanto nas células beta pancreáticas humanas quanto nos adipócitos, apoiando um papel fundamental da PRL na regulação metabólica periférica (BUGGE *et al.*, 2016).

Ainda, a expressão reduzida do PRLR em camundongos observou níveis elevados de glicose no sangue, diminuição da massa de células beta e diminuição da secreção de insulina, – em comparação com camundongos que expressam níveis normais do mesmo receptor – (SHRIVASTAVA *et al.*, 2021), enquanto que nos camundongos que não expressam esse receptor há um número menor de células beta, níveis mais baixos de insulina circundante e inflamação pancreática aumentada (RAMIREZ-HERNANDEZ *et al.*, 2021). Com isso, a PRL pode ser citada como sendo um hormônio envolvido na homeostase das células beta pancreáticas, da mesma forma que estudos comprovam o seu papel protetor no Diabetes Mellitus (DM) (RAMIREZHERNANDEZ *et al.*, 2021).

A PRL também se relaciona com a redução de células beta do pâncreas no período perinatal em camundongos, que, se não possuírem o PRLR, ocasionam às respostas de estresses metabólicos, sendo apontados como obesidade, dependência de terapia com glicocorticoides e envelhecimento, podendo levar à falha da função de células beta, produção insuficiente de insulina e intolerância à glicose, predispondo ao DM (NIELSEN, 2016).

Quanto à composição corporal e ao Índice de Massa Corporal (IMC), um efeito prejudicial da deficiência de PRL também foi documentado no metabolismo glicoinsulinêmico. Em indivíduos não hiperprolactinêmicos, foram encontrados níveis mais baixos de PRL associados ao comprometimento da glicose (LI *et al.*, 2018). Níveis séricos mais baixos de PRL também foram identificados como um fator preditivo negativo de maior risco de desenvolver glicemia de jejum alterada e DM após o parto (KRYSIK; KOWALCZE; OKOPIEN, 2022). Com isso, a restauração dos níveis de PRL dentro dos limites normais permite melhorar o metabolismo lipídico e glicoinsulinêmico, levando em consideração a sua associação com esses metabolismos (ZHANG *et al.*, 2018).

No que se associa ao controle ósseo, o comprometimento nos níveis de PRL

está associado ao metabolismo ósseo de forma deficiente. Os níveis baixos de esteroides sexuais nesses animais também são responsáveis pela baixa Densidade Mineral Óssea (DMO) (ATICI *et al.*, 2020). Um artigo de 2018 destaca o papel das citocinas e da PRL como principais reguladores da reabsorção óssea durante a lactação (MACARI *et al.*, 2018), e, embora possua papéis importantes na produção de leite, no estado de doença, ela também pode afetar a homeostase óssea (ATICI *et al.*, 2020).

### 3.4 EFEITOS DA PRL NA ANGIOGÊNESE E NOS FOLÍCULOS PILOSOS

A PRL também pode estimular a angiogênese nas ilhotas pancreáticas e se demonstra eficaz na promoção da vascularização do transplante em modelos murinos, da mesma forma que estudos de Johansson e colaboradores (2009) apresentaram um aumento de 50% da densidade vascular das ilhotas pancreáticas tratadas com PRL antes do transplante em camundongos, em comparação com camundongos que receberam transplantes de ilhotas pancreáticas não tratados com PRL.

Esse efeito angiogênico da PRL é mediado pela ativação de transdutor de sinal do fator de transcrição e ativador da transcrição 5 (STAT5), necessária para induzir migração, invasão e formação de estruturas tubulares por linhagens de células endoteliais (YANG; FRIEDL, 2014). Além disso, esse efeito depende de sua conversão em vaso-inibinas (fragmentos da PRL com propriedades antiangiogênicas, pró-apoptóticas e vasoconstritoras) que é realizada por proteases, como catepsina D e metaloproteases de matriz (CLAPP *et al.*, 2014). A PRL estimula a proliferação de células beta por induzir a expressão de survivina e serotonina, que induz a angiogênese (BORBA; ZANDMAN-GODDARD; SHOENFELD, 2019).

E, do ponto de vista da sua influência nos folículos capilares e cutâneos, a PRL desempenha o papel de promover o crescimento capilar nos órgãos foliculares, além de regular positivamente a expressão de queratina em células-tronco epiteliais humanas adultas e estimular a proliferação de queratinócitos epidérmicos em cultura celular (LANGAN *et al.*, 2010).

### 3.5 EFEITOS DA PRL NO SISTEMA IMUNOLÓGICO

As mulheres apresentam um aumento da reatividade imunológica, da apresentação de antígenos e de respostas mitogênicas. Além disso, apresentam

níveis mais elevados de imunoglobulinas e da taxa de rejeição de homoenxertos. Sendo assim, o sistema imunológico garante a concepção, mas, também, lida com alterações hormonais exacerbadas (PICCINNI *et al.*, 2016), justamente pelo fato da PRL atuar como estimulante imunológico (ORTONA *et al.*, 2016), inibindo, principalmente, a seleção negativa de linfócitos B autorreativos (BORBA; ZANDMANGODDARD; SHOENFELD, 2019).

Uma das adaptações imunológicas mais importantes na gravidez é a mudança na implantação de uma resposta pró-inflamatória Th1/Th17 para uma resposta de células Th2/células T regulatórias (Tregs), que promove a tolerância e inibe a citotoxicidade das células Natural Killers (NK) (ORTONA *et al.*, 2016), assim como regula a produção de IL-6 e IFN- $\gamma$  e influencia os níveis de IL-2 (MACKERNOBERTI *et al.*, 2016). Por outro lado, as interleucinas IL-1, IL-2, IL-6 e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) podem atuar como reguladores parácrinos ou endócrinos na liberação de PRL (RAMOS-MARTINEZ *et al.*, 2022).

Da mesma forma, durante a gravidez, linfócitos T, granulócitos e monócitos circulantes maternos aumentam, enquanto que, a expressão do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe II, pelos monócitos circulantes, é reduzida, a fim de prevenir a resposta indesejada materna contra os antígenos fetais (GROEN *et al.*, 2015) e, perto do parto, o sistema imunológico materno muda para um estado próinflamatório para que ele seja promovido (EDEY *et al.*, 2017).

Ademais, células do sistema imunológico, como células T, células B e células Natural Killer (NK) expressam o PRLR (ABRAMICHEVA; SMIRNOVA, 2019), através do qual esse hormônio é capaz de mediar muitas funções no sistema imunológico (SAVINO, W., 2017) e, a sua ligação a ele está relacionada ao seu papel anti-inflamatório e reparador, fora do processo da gravidez (RAMOS-MARTINEZ *et al.*, 2022).

A PRL faz parte de uma das principais famílias de hormônios secretados pela placenta e, nas membranas fetais humanas, desempenha um efeito imunomodulador seletivo na resposta pró-inflamatória, regulando, negativamente, a secreção de TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , enquanto mantém níveis de IL-10 não modificados (FLORES-ESPINOSA *et al.*, 2017). Ela atua como uma citocina modulando a resposta imune por mecanismos parácrinos e autócrinos (MACKERN-OBERTI *et al.*, 2016). Essas funções incluem a capacidade da PRL de aumentar o número de células imunes nos exsudados da glândula mamária e de aumentar o efeito de quimiotaxia sobre células T, células T de

memória, células B, monócitos, macrófagos, neutrófilos e eosinófilos (DILL; WALKER., 2016).

Exerce grande influência nas respostas imunes inata e adaptativa, quando se relaciona com a regulação e a maturação de timócitos CD4 e CD8 em células T CD4+ e T CD8+, através da expressão do receptor de IL-2. Além disso, níveis elevados de PRL prejudicam a deleção clonal de células B, desregulam a edição de receptores – processo que substitui os genes da região variável da cadeia pesada ou da cadeia leve em um receptor de imunoglobulina de células B já reorganizado produtivamente – e diminuem o limiar para ativação de células B anérgicas, promovendo reatividade exacerbada (SAHA *et al.*, 2009).

Ainda no contexto imunológico, a PRL aumenta a adesão de células mononucleares com células epiteliais, participam da expressão do receptor de quimiocina do tipo CXCR3 e inibem a capacidade supressiva de Tregs (LEGORRETAHAQUET *et al.*, 2011). Além de auxiliar na ativação e mitose de células T, enquanto que, nas células B, o hormônio atua aumentando a maturação e a produção de autoanticorpos (LEGORRETA-HERRERA, 2018).

Diferentes estudos mostram que macrófagos expostos à PRL secretam maiores quantidades de IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-12, quimiocinas como proteína inflamatória de macrófagos (MIP) -1 $\alpha$ , proteína quimioatraente de monócitos (MCP) -1 e proteína induzível por IFN-gama (IP) -10, também como espécies reativas de oxigênio (SODHI; TRIPATHI, 2008). Além disso, foi demonstrado que a PRL desempenha um papel cooperativo na produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e IL-12, em resposta ao CD40L e ao TNF- $\alpha$  (TANG *et al.*, 2017).

Outro mecanismo pelo qual a PRL age indiretamente contra é a apoptose, por apresentar um aumento da expressão de proteína de choque térmico B1 (HSPB1), envolvida na proteção contra estresse do retículo endoplasmático e apoptose em culturas de células beta de camundongos, que participa na degradação aumentada de proteínas pró-apoptóticas (GOMES *et al.*, 2021).

Da mesma forma, a PRL promove proliferação, crescimento e produção de insulina em células beta pancreáticas, através da redução da apoptose, regulando a expressão de genes apoptóticos e antiapoptóticos (BORBA; ZANDMAN-GODDARD; SHOENFELD, 2019) através da ativação do STAT5, envolvido na inibição de apoptose e na regulação do ciclo celular, mediando o efeito proliferativo de PRL (XU *et al.*,

2015).

### 3.5.1 PRL e as doenças autoimunes

Através da análise da atuação da PRL no sistema imunológico, a alta incidência de doenças autoimunes em mulheres sugere que a homeostase hormonal feminina é um fator de risco muito importante (ØSTENSEN *et al.*, 2015), bem como a maior prevalência de autoimunidade entre mulheres férteis, dado o seu início durante a gravidez e a sua recaída pós-parto, são alguns dos pontos que sustentam a teoria de que os hormônios sexuais sejam um dos interferentes nessas doenças (BORBA; ZANDMAN-GODDARD; SHOENFELD, 2019).

A hiperprolactinemia tem sido associada às doenças autoimunes, interferindo na sua patogênese e atividade (BORBA; ZANDMAN-GODDARD; SHOENFELD, 2019), podendo ser determinada não apenas por adenomas hipofisários secretores de PRL, mas também pela gravidez e lactação, distúrbios sistêmicos (insuficiência renal crônica e cirrose) ou tratamentos farmacológicos severos (MELMED *et al.*, 2011).

Durante o período de gravidez e lactação, diversos pacientes autoimunes apresentam recaídas, sugerindo uma interferência ativa do aumento dos níveis de PRL. Essa associação foi considerada significativa no lúpus eritematoso sistêmico (LES), na artrite reumatoide (AR) e na cardiomiopatia periparto (BORBA; ZANDMANGODDARD; SHOENFELD, 2019). Além disso, foi relatada uma associação entre hiperprolactinemia e doenças autoimunes sistêmicas (DAS), bem como as autoimunes específicas de órgãos, como diabetes mellitus do tipo 1 (DM1), tireoidite de Hashimoto e EM (PARAIBA *et al.*, 2010).

Com relação ao LES, uma doença autoimune que afeta, principalmente, mulheres jovens em idade reprodutiva, numa proporção de 9:1 quando comparada aos homens (SONG; LEE, 2017). Foi revelado, de acordo com estudo de Yang e colaboradores (2016), que a PRL desempenha um papel ativo na inibição da apoptose de células B imaturas de camundongos com LES.

Assim, pode aumentar a gravidade da doença em indivíduos propensos a ela, promovendo a maturação e a sobrevivência de células B autorreativas. Da mesma forma que, em modelos animais, a PRL foi capaz de induzir o desenvolvimento de um fenótipo semelhante ao lúpus em camundongos não propensos e exacerbar a doença,

em um estudo experimental murino de lúpus (SAHA *et al.*, 2011).

Em pacientes com AR e artrite psoriática, a expressão de PRLR é, significativamente, maior no tecido sinovial em comparação com indivíduos saudáveis. Além disso, macrófagos tratados com IFN- $\gamma$  e IL-10 mostraram uma expressão aumentada de PRLR em comparação com células de controle. Assim, a PRL pode fazer parte de um ciclo de feedback positivo nos macrófagos, estimulando a produção de fatores inflamatórios, que por sua vez estimulam a expressão de PRLR, resultando em inflamação exacerbada (TANG *et al.*, 2017).

Com relação à cardiomiopatia periparto, é uma doença potencialmente fatal, definida por insuficiência cardíaca no final da gravidez ou nos meses seguintes ao parto, afetando mulheres previamente saudáveis (HILFIKER-KLEINER; SLIWA, 2014). Vários estudos demonstraram com sucesso um papel ativo da PRL na fisiopatologia da cardiomiopatia periparto. O aumento do estresse oxidativo e a subsequente geração de PRL prejudicam a vasculatura cardíaca e seu metabolismo, culminando finalmente em insuficiência cardíaca sistólica (KARAYE; HENEIN, 2013) e estando, significativamente, correlacionada com o HeartScore, um índice composto capaz de prever a mortalidade cardiovascular em 10 anos em mulheres saudáveis durante a primeira década após o início da menopausa (GEORGIOPOULOS *et al.*, 2017).

Na verdade, descobriu-se, recentemente, que a espessura do tecido adiposo epicárdico, considerado um marcador substituto da gordura visceral e um novo indicador de risco cardiovascular, é maior em pacientes com prolactinoma em comparação com controles saudáveis, mesmo que funções sistólicas e diastólicas cardíacas semelhantes tenham sido observadas entre os dois grupos (YAZICI *et al.*, 2021). Da mesma forma, em mulheres saudáveis na pós-menopausa, foi relatado que alterações nos parâmetros hemodinâmicos e na função endotelial eram previstas pelos níveis de PRL, mesmo que normais (AURIEMMA, *et al.*, 2021).

Com base nesses resultados, em mulheres com prolactinomas após a menopausa, além do risco comum mais elevado de desenvolver doenças cardiovasculares em comparação com a idade fértil, um aumento adicional no risco cardiovascular pode depender do impacto metabólico do excesso de PRL, sugerindo, assim, um maior risco de um evento cardiovascular nesses pacientes (FAJE; KLIBANSKI, 2014). A declaração de posição europeia de 2010 desaconselha a amamentação com base na preocupação de propagação da via patogênica da PRL

através da estimulação contínua da liberação de PRL (ARRIGO; BLET; MEBAZAA, 2017).

Já nas doenças autoimunes sistêmicas, o PRLR é constitutivamente expresso em maiores quantidades nas células Tregs, ao mesmo tempo em que, tanto a porcentagem quanto a função das células Treg, estão diminuídas em pacientes com DAS em comparação com indivíduos saudáveis. Este fato sugere, de acordo com Legorreta-Haquet e colaboradores (2016) que existe uma relação entre a via de sinalização da PRL e a progressão de doenças autoimunes sistêmicas.

Da mesma forma, outro estudo relatou que pacientes com DAS apresentaram níveis aumentados de PRL circulante, quando comparados com indivíduos normais, que se correlaciona, positivamente, com a produção de autoanticorpos anti-DNA de fita dupla. A concentração de PRL foi reduzida durante a remissão da doença, o que pode indicar que os níveis de PRL preveem a gravidade da doença em pacientes com DAS (ORBACH *et al.*, 2011).

No caso na DM1, uma doença causada pela destruição autoimune das células  $\beta$  pancreáticas, a PRL pode aumentar a eficácia da terapia com anticorpos monoclonais anti-CD3 para induzir a remissão da doença, regulando a massa e a função das células  $\beta$  (HYSLOP *et al.*, 2016). Ademais, várias revisões sobre o papel da PRL e das doenças autoimunes apontam que, os pacientes com DM1 apresentam hiperprolactinemia (RAMOS-MARTINEZ *et al.*, 2022), o que, juntamente, com as funções da PRL no sistema imunológico, levou a postular uma possível relação entre eles (BORBA; ZANDMAN-GODDARD; SHOENFELD, 2019).

Foi relatado ainda que o tratamento de camundongos com doses mais baixas de PRL melhora a secreção de insulina e sensibilidade, isto é, a PRL está envolvida em vários processos relacionados à etiologia do DM1, como ativação do sistema imunológico, angiogênese e sobrevivência e proliferação de células beta (PARK *et al.*, 2011).

A EM é uma doença inflamatória crônica do SNC, caracterizada pela presença de áreas multifocais de infiltração de células imunitárias, desmielinização e danos axonais localizados principalmente na substância branca (STEINMAN, 2014). Foram apresentados ensaios que demonstraram uma correlação positiva entre hiperprolactinemia e início da doença (CORREALE; FAREZ; YSRRAELIT, 2014), especialmente entre pacientes com lesões hipotalâmicas – desregulação inespecífica do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, secundária à desmielinização e/ou neurite óptica

(GIUSTINA; MAZZIOTTI; CANALIS, 2008).

Em um desses estudos revelou que o tratamento de um prolactinoma resultou na remissão da doença, que se desenvolveu quando os níveis de PRL do paciente eram muito elevados (WATAD *et al.*, 2015). Equitativamente, pode se apresentar devido à uma maior prevalência ou maior sensibilidade ao estresse psicossocial (SONIGO *et al.*, 2012).

E, com relação à esclerose sistêmica, as fontes de hiperprolactinemia podem incluir aumento do tônus dopaminérgico, secreção de linfócitos e medicamentos. Mulheres com esclerose sistêmica podem ter gestações bem-sucedidas, embora apresentem maior risco de complicações fetais, principalmente devido à fibrose cutânea. Em suma, descobriu-se que a PRL está correlacionada com a atividade e gravidade da doença (STEINMAN, 2014).

Hoje em dia, sabe-se que o risco de recaída diminui significativamente durante a gravidez, particularmente durante o terceiro trimestre, apenas para aumentar três vezes nos primeiros 3-4 meses pós-parto. Uma meta-análise recente relatou que as mulheres que amamentaram tinham quase metade da probabilidade de sofrer uma recaída da doença pós-parto (PAKPOOR *et al.*, 2012).

Além disso, Hellwig e colaboradores (2015) realizaram um grande estudo em mulheres grávidas com EM que pretendiam amamentar os seus recém-nascidos e os autores relataram que, um retorno mais precoce da menstruação estava associado à um maior risco de recaída nos primeiros 6 meses pós-parto, o que sugere que a amamentação exclusiva funciona como um tratamento com data final natural.

Da mesma forma, estudos biológicos em mulheres saudáveis demonstraram que a sucção intensa e de alta frequência mantém a hiperprolactinemia e os níveis baixos do hormônio luteinizante (LH). A amenorreia lactacional prolongada foi associada a uma redução de quatro vezes no risco de recaídas pós-parto (LANGERGOULD *et al.*, 2010).

E com relação aos efeitos benéficos, a PRL possui resultados positivos contra a EM, que podem ser citados como a proteção contra a toxicidade e pelo aumento da remielinização. (PORTO-NETO *et al.*, 2018). Por outro lado, os níveis de PRL foram mais elevados em pacientes com EM em comparação com os controles, o que parece promover a autorreatividade das células B (GIUSTINA; MAZZIOTTI; CANALIS, 2008).

No que diz respeito à encefalomielite, a combinação de PRL com uma dose abaixo do normal de interferon  $\beta$  recombinante de murinos, melhorou os sinais clínicos

na encefalomielite autoimune experimental (EAE) (ZHORNITSKY *et al.*, 2015). O papel da PRL na EAE, também, foi observado no atraso na produção de IFN- $\gamma$ , IL-17A e IL-6 e na proliferação de células T, em camundongos PRL e PRLR suprimidos (COSTANZA *et al.*, 2013). Esses achados sugerem um efeito potencializador da PRL na melhora da doença.

Com isso, foi demonstrado que a restauração dos níveis normais de PRL, por meio de terapia adequada, melhora o comprometimento metabólico. E, os agonistas da dopamina (DAs), principalmente a bromocriptina (BRC) e a cabergolina (CAB), representam o tratamento de escolha para pacientes com hiperprolactinemia (AURIEMMA *et al.*, 2019).

### 3.6 A DESREGULAÇÃO DA PRL EM CÂNCERES

A hiperprolactinemia também pode estar relacionada com causas patológicas, como na tumorigênese da mama, mas, também, em vários cânceres responsivos aos hormônios, como câncer de ovário e endométrio, bem como câncer de pâncreas, de cólon (YSRRAELIT; CORREALE, 2018), hepatocelular e pulmão (ATICI *et al.*, 2020).

Assim como outros tumores da região hipotálamo-hipofisária também podem causar hiperprolactinemia, seja pelo aumento da produção de PRL, ou por compressão da haste hipofisária (VILAR; FLESERIU; BRONSTEIN, 2014). Esses tumores são chamados pseudoprolactinomas por alguns autores (MELMED *et al.*, 2011), uma vez que não secretam PRL, mas interferem no aporte de dopamina do hipotálamo para a hipófise (VILAR *et al.*, 2019). E, as principais manifestações clínicas da hiperprolactinemia crônica são citadas como galactorreia, decorrente do estímulo direto da lactação (VILAR *et al.*, 2018).

A sinalização aprimorada de PRLR em tumores ginecológicos, pancreáticos e colorretais promove potencial metastático, quimiorresistência e eventos de sinalização pró-sobrevivência (RAMÍREZ-DE-ARELLANO *et al.*, 2021).

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com isso, através das análises, é estabelecido que a PRL promove um amplo espectro de ações metabólicas e imunológicas, impactando na homeostase do organismo feminino, uma vez que foi demonstrado que tanto o excesso como a

deficiência de PRL desempenha uma ação prejudicial no corpo da mulher. Com os adipócitos, a PRL exerce ações endócrinas e autócrinas, no entanto, durante a obesidade, as regulatórias são interrompidas. Da mesma forma, decifrar as influências da prolactina na capacidade de resposta imunológica pode ser fundamental para fornecer novas estratégias terapêuticas de patologias com o envolvimento deste.

Suas ações são mediadas pelo PRLR, que também contribui para a tumorigênese e progressão de cânceres, pela sua expressão ser exacerbada nas células de todo o organismo. E, com isso, foi encontrada uma correlação direta entre os níveis de PRL e a atividade de doenças em alguns distúrbios. Ademais, a PRL desempenha um papel crucial no desenvolvimento da glândula mamária, na lactogênese, na reprodução e no nascimento, considerando a sua atuação estimulando a produção de componentes do leite e o seu envolvimento na regulação do comportamento e adaptação materna para a gestação, encontrado em maior quantidade nas mulheres, e devido à isso, apresentando impactos maiores nessas, pelo mesmo motivo.

## REFERÊNCIAS

- ABRAMICHEVA, P. A.; SMIRNOVA, O. V.. Prolactin Receptor Isoforms as the Basis of Tissue-Specific Action of Prolactin in the Norm and Pathology. **Biochemistry (Moscow)**, [S.L.], v. 84, n. 4, p. 329-345, abr. 2019. Pleiades Publishing Ltd. <http://dx.doi.org/10.1134/s0006297919040011>. Acesso em: 14 jul. 2023.
- ALEX, Ashley; BHANDARY, Eva; MCGUIRE, Kandace P.. Anatomy and Physiology of the Breast during Pregnancy and Lactation. **Advances In Experimental Medicine And Biology**, [S.L.], p. 3-7, 21 ago. 2020. Springer International Publishing. [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-41596-9\\_1](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-41596-9_1). Acesso em: 22 ago. 2023.
- ARANGO, María-Teresa *et al.* HLA-DRB1 the notorious gene in the mosaic of autoimmunity. **Immunologic Research**, [S.L.], v. 65, n. 1, p. 82-98, 19 jul. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12026-0168817-7>. Acesso em: 15 ago. 2023.
- ARRIGO, Mattia; BLET, Alice; MEBAZAA, Alexandre. Bromocriptine for the treatment of peripartum cardiomyopathy: welcome on board. **European Heart Journal**, [S.L.], v. 38, n. 35, p. 2680-2682, 26 jul. 2017. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehx428>. Disponível em: <https://academic.oup.com/eurheartj/article/38/35/2680/4037483?login=false>. Acesso em: 25 ago. 2023.
- ATICI, Ödül Karayazi *et al.* Prolactin: a hormone with diverse functions from mammary gland development to cancer metastasis. **Seminars In Cell & Developmental Biology**, [S.L.], v. 114, p. 159-170, jun. 2021. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.semcdb.2020.10.005>. Disponível em:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1084952120301646?via%3Dihub>. Acesso em: 16 set. 2023.

AURIEMMA, Renata S. *et al.* Dopamine Agonists: from the 1970s to today. **Neuroendocrinology**, [S.L.], v. 109, n. 1, p. 34-41, 11 mar. 2019. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000499470>. Disponível em:  
<https://karger.com/nen/article/109/1/34/227213/Dopamine-Agonists-From-the-1970sto-Today>. Acesso em: 05 jun. 2023.

AURIEMMA, Renata S. *et al.* Hyperprolactinemia after menopause: diagnosis and management. **Maturitas**, [S.L.], v. 151, p. 36-40, set. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.maturitas.2021.06.014>. Acesso em: 13 jul. 2023.

BEN-JONATHAN, Nira; LAPENSEE, Christopher R.; LAPENSEE, Elizabeth W.. What Can We Learn from Rodents about Prolactin in Humans? **Endocrine Reviews**, [S.L.], v. 29, n. 1, p. 1-41, 29 fev. 2008. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/er.2007-0017>. Disponível em:  
<https://academic.oup.com/edrv/article/29/1/1/2354965?login=false>. Acesso em: 02 jun. 2023.

BERNARD, Valerie *et al.* Autocrine actions of prolactin contribute to the regulation of lactotroph function in vivo. **The FASEB Journal**, [S.L.], v. 32, n. 9, p. 4791-4797, 29 mar. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1096/fj.201701111rr>. Disponível em:  
<https://faseb.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1096/fj.201701111RR>. Acesso em: 25 ago. 2023.

BERNARD, Valérie; YOUNG, Jacques; BINART, Nadine. Prolactin — a pleiotropic factor in health and disease. **Nature Reviews Endocrinology**, [S.L.], v. 15, n. 6, p. 356-365, 21 mar. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41574-019-0194-6>. Acesso em: 20 jul. 2023.

BORBA, Vânia Vieira; ZANDMAN-GODDARD, Gisele; SHOENFELD, Yehuda. Prolactin and autoimmunity: the hormone as an inflammatory cytokine. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, [S.L.], v. 33, n. 6, p. 101324, dez. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.beem.2019.101324>. Acesso em: 13 jun. 2023.

BROWN, Rosemary S. E. *et al.* Prolactin action in the medial preoptic area is necessary for postpartum maternal nursing behavior. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 114, n. 40, p. 10779-10784, 18 set. 2017. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1708025114>. Disponível em:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5635892/>. Acesso em: 12 ago. 2023.

BUGGE, Katrine *et al.* A combined computational and structural model of the fulllength human prolactin receptor. **Nature Communications**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 0111, 13 maio 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms11578>. Disponível em:  
<https://www.nature.com/articles/ncomms11578>. Acesso em: 14 set. 2023.

CAO, Yan *et al.* Prolactin-regulated Pbk is involved in pregnancy-induced  $\beta$ -cell proliferation in mice. **Journal Of Endocrinology**, [S.L.], v. 252, n. 2, p. 107-123, dez. 2021. Bioscientifica. <http://dx.doi.org/10.1530/joe-21-0114>. Disponível em: <https://joe.bioscientifica.com/view/journals/joe/252/2/JOE-21-0114.xml>. Acesso em: 05 jun. 2023.

CAPOZZI, Anna *et al.* Hyperprolactinemia: pathophysiology and therapeutic approach. **Gynecological Endocrinology**, [S.L.], v. 31, n. 7, p. 506-510, 3 jul. 2015. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/09513590.2015.1017810>. Acesso em: 03 jul. 2023.

CHIEN, Hung-Yu; CHEN, Su-Mei; LI, Wan-Chun. Dopamine receptor agonists mechanism of actions on glucose lowering and their connections with prolactin actions. **Frontiers In Clinical Diabetes And Healthcare**, [S.L.], v. 4, p. 01-10, 9 mar. 2023. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fcdhc.2023.935872>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcdhc.2023.935872/full>. Acesso em: 16 set. 2023.

CLAPP, Carmen *et al.* Regulation of Blood Vessels by Prolactin and Vasoinhibins. **Advances In Experimental Medicine And Biology**, [S.L.], n. 846, p. 83-95, 4 dez. 2014. Springer International Publishing. [http://dx.doi.org/10.1007/9783-319-12114-7\\_4](http://dx.doi.org/10.1007/9783-319-12114-7_4). Acesso em: 23 set. 2023.

CORREALE, Jorge; FAREZ, Mauricio F.; YSRRAELIT, María Célida. Role of prolactin in B cell regulation in multiple sclerosis. **Journal Of Neuroimmunology**, [S.L.], v. 269, n. 1-2, p. 76-86, abr. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneuroim.2014.02.007>. Acesso em: 13 jul. 2023.

COSTANZA, Massimo *et al.* Prolactin: a versatile regulator of inflammation and autoimmune pathology. **Autoimmunity Reviews**, [S.L.], v. 14, n. 3, p. 223-230, mar. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2014.11.005>. Acesso em: 26 jun. 2023.

COSTANZA, Massimo *et al.* Prolactin Is Not Required for the Development of Severe Chronic Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. **The Journal Of Immunology**, [S.L.], v. 191, n. 5, p. 2082-2088, 1 set. 2013. The American Association of Immunologists. <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1301128>. Disponível em: <https://journals.aai.org/jimmunol/article/191/5/2082/43125/ProlactinIs-Not-Required-for-the-Development-of>. Acesso em: 12 set. 2023.

DÍAZ, Lorenza *et al.* Calcitriol stimulates prolactin expression in non-activated human peripheral blood mononuclear cells: breaking paradigms. **Cytokine**, [S.L.], v. 55, n. 2, p. 188-194, ago. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2011.04.013>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1043466611001335?via%3Di> hub. Acesso em: 17 set. 2023.

DILL, Riva; WALKER, Ameae M.. Role of Prolactin in Promotion of Immune Cell Migration into the Mammary Gland. **Journal Of Mammary Gland Biology And**

**Neoplasia**, [S.L.], v. 22, n. 1, p. 13-26, 29 nov. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10911-016-9369-0>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5313375/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

EDEY, Lydia F *et al.* Progesterone, the maternal immune system and the onset of parturition in the mouse†. **Biology Of Reproduction**, [S.L.], v. 98, n. 3, p. 376-395, 14 nov. 2017. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/biolre/iox146>. Disponível em: [https://spiral.imperial.ac.uk/bitstream/10044/1/56976/2/2017\\_Edey\\_BiolReprod.pdf](https://spiral.imperial.ac.uk/bitstream/10044/1/56976/2/2017_Edey_BiolReprod.pdf). Acesso em: 12 jul. 2023.

FAJE, Alexander T.; KLIBANSKI, Anne. The treatment of hyperprolactinemia in postmenopausal women with prolactin-secreting microadenomas: cons. **Endocrine**, [S.L.], v. 48, n. 1, p. 79-82, 3 jun. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12020-014-0308-9>. Acesso em: 05 jun. 2023.

FARON-GÓRECKA, Agata *et al.* The Involvement of Prolactin in Stress-Related Disorders. **International Journal Of Environmental Research And Public Health**, [S.L.], v. 20, n. 4, p. 3257, 13 fev. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph20043257>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36833950/>. Acesso em: 16 set. 2023.

FLORES-ESPINOSA, Pilar *et al.* Selective immuno-modulatory effect of prolactin upon pro-inflammatory response in human fetal membranes. **Journal Of Reproductive Immunology**, [S.L.], v. 123, p. 58-64, set. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jri.2017.09.004>. Acesso em: 20 set. 2023.

GEORGIPOULOS, G *et al.* Prolactin as a predictor of endothelial dysfunction and arterial stiffness progression in menopause. **Journal Of Human Hypertension**, [S.L.], v. 31, n. 8, p. 520-524, 23 mar. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/jhh.2017.15>. Acesso em: 22 jul. 2023.

GIUSTINA, Andrea; MAZZIOTTI, Gherardo; CANALIS, Ernesto. Growth Hormone, Insulin-Like Growth Factors, and the Skeleton. **Endocrine Reviews**, [S.L.], v. 29, n. 5, p. 535-559, 1 ago. 2008. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/er.20070036>. Disponível em: <https://academic.oup.com/edrv/article/29/5/535/2354995?login=false>. Acesso em: 26 set. 2023.

GLEIBERMAN, Anatoli S. *et al.* Genetic approaches identify adult pituitary stem cells. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 105, n. 17, p. 6332-6337, 29 abr. 2008. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0801644105>. Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.0801644105>. Acesso em: 23 ago. 2023.

GOMES, Vinícius M. *et al.* HSPB1 Is Essential for Inducing Resistance to Proteotoxic Stress in Beta-Cells. **Cells**, [S.L.], v. 10, n. 9, p. 2178-2194, 24 ago. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cells10092178>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8472426/>. Acesso em: 20 ago. 2023.

GRATTAN, David R. 60 YEARS OF NEUROENDOCRINOLOGY: the hypothalamoprolactin axis. **Journal Of Endocrinology**, [S.L.], v. 226, n. 2, p. 101-122, 22 jun.

2015. Bioscientifica. <http://dx.doi.org/10.1530/joe-15-0213>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4515538/>. Acesso em: 15 set. 2023.

GRATTAN, D. R.; KOKAY, I. C.. Prolactin: a pleiotropic neuroendocrine hormone. **Journal Of Neuroendocrinology**, [S.L.], v. 20, n. 6, p. 752-763, jun. 2008. Wiley.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01736.x>. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2826.2008.01736.x>. Acesso em: 17 set. 2023.

GROEN, Bart *et al.* Immunological Adaptations to Pregnancy in Women with Type 1 Diabetes. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 01-13, 22 set. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/srep13618>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4585728/>. Acesso em: 14 jul. 2023.

GUYTON, Arthur Clifton; HALL, John E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 13. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, 2017. 1176 p.

HAXHOLM, Gitte W. *et al.* Intrinsically disordered cytoplasmic domains of two cytokine receptors mediate conserved interactions with membranes. **Biochemical Journal**, [S.L.], v. 468, n. 3, p. 495-506, 15 jun. 2015. Portland Press Ltd..

<http://dx.doi.org/10.1042/bj20141243>. Acesso em: 13 ago. 2023.

HELLWIG, Kerstin *et al.* Exclusive Breastfeeding and the Effect on Postpartum Multiple Sclerosis Relapses. **Jama Neurology**, [S.L.], v. 72, n. 10, p. 1132, 1 out. 2015. American Medical Association (AMA).

<http://dx.doi.org/10.1001/jamaneurol.2015.1806>. Disponível em:

<https://jamanetwork.com/journals/jamaneurology/fullarticle/2429941>. Acesso em: 05 jun. 2023.

HILFIKER-KLEINER, Denise; SLIWA, Karen. Pathophysiology and epidemiology of peripartum cardiomyopathy. **Nature Reviews Cardiology**, [S.L.], v. 11, n. 6, p. 364370, 1 abr. 2014. Springer Science and Business Media LLC.

<http://dx.doi.org/10.1038/nrcardio.2014.37>. Acesso em: 03 jun. 2023.

HODSON, David J. *et al.* Photoperiodic Modulation of the Suppressive Actions of Prolactin and Dopamine on the Pituitary Gonadotropin Responses to GonadotropinReleasing Hormone in Sheep1. **Biology Of Reproduction**, [S.L.], v. 86, n. 4, p. 0109, 1 abr. 2012. Oxford University Press (OUP).

<http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod.111.096909>. Disponível em:

<https://academic.oup.com/biolreprod/article/86/4/122,%201-9/2530735?login=false>. Acesso em: 16 set. 2023.

HUANG, Carol; SNIDER, Frances; CROSS, James C.. Prolactin Receptor Is Required for Normal Glucose Homeostasis and Modulation of  $\beta$ -Cell Mass during Pregnancy. **Endocrinology**, [S.L.], v. 150, n. 4, p. 1618-1626, abr. 2009. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/en.2008-1003>. Disponível em:

<https://academic.oup.com/endo/article/150/4/1618/2455653?login=false>. Acesso em: 16 ago. 2023.

HUANG, Carol. Wild-type offspring of heterozygous prolactin receptor-null female mice have maladaptive  $\beta$ -cell responses during pregnancy. **The Journal Of Physiology**, [S.L.], v. 591, n. 5, p. 1325-1338, 17 dez. 2012. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.2012.244830>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3607874/>. Acesso em: 14 set. 2023.

HUGO, Eric R. *et al.* Prolactin Release by Adipose Explants, Primary Adipocytes, and LS14 Adipocytes. **The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism**, [S.L.], v. 93, n. 10, p. 4006-4012, 1 out. 2008. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2008-1172>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2579649/>. Acesso em: 03 ago. 2023.

HYSLOP, Colin M. *et al.* Prolactin as an Adjunct for Type 1 Diabetes Immunotherapy. **Endocrinology**, [S.L.], v. 157, n. 1, p. 150-165, 1 jan. 2016. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/en.2015-1549>. Disponível em: <https://academic.oup.com/endo/article/157/1/150/2251838?login=false>. Acesso em: 02 ago. 2023.

JOHANSSON, Magnus *et al.* Erratum. **Endocrinology**, [S.L.], v. 150, n. 9, p. 44614461, 1 set. 2009. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/endo.150.9.9993>. Disponível em: <https://academic.oup.com/endo/article/150/4/1646/2455668>. Acesso em: 03 ago. 2023.

KARACA, Z *et al.* Pregnancy and pituitary disorders. **European Journal Of Endocrinology**, [S.L.], v. 162, n. 3, p. 453-475, mar. 2010. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1530/eje-09-0923>. Acesso em: 14 jul. 2023.

KARAYE, Kamilu M.; HENEIN, Michael Y.. Peripartum cardiomyopathy: a review article. **International Journal Of Cardiology**, [S.L.], v. 164, n. 1, p. 33-38, mar. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2011.11.069>. Acesso em: 24 jun. 2023.

KAVARTHAPU, Raghuvier; DUFAU, Maria L.. Prolactin receptor gene transcriptional control, regulatory modalities relevant to breast cancer resistance and invasiveness. **Frontiers In Endocrinology**, [S.L.], v. 13, p. 01-13, 15 set. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2022.949396>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9520000/>. Acesso em: 15 set. 2023.

KIRSCH, Polly *et al.* Metabolic effects of prolactin and the role of dopamine agonists: a review. **Frontiers In Endocrinology**, [S.L.], v. 13, p. 01-13, 30 set. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2022.1002320>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2022.1002320/full>. Acesso em: 14 jun. 2023.

KOBAYASHI, Tatsuya *et al.* Variant Prolactin Receptor in Agalactia and Hyperprolactinemia. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 379, n. 23, p.

2230-2236, 6 dez. 2018. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa1805171>. Disponível em: [https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1805171?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%20%20pubmed](https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1805171?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed). Acesso em: 08 jun. 2023.

KRYSIK, Robert; KOWALCZE, Karolina; OKOPIEN, Bogusław. Cardiometabolic profile of young women with hypoprolactinemia. **Endocrine**, [S.L.], v. 78, n. 1, p. 135141, 29 jul. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12020-022-03145-1>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9474346/>. Acesso em: 04 set. 2023.

LANGAN, Ewan A. *et al.* Prolactin: an emerging force along the cutaneous: endocrine axis. **Trends In Endocrinology & Metabolism**, [S.L.], v. 21, n. 9, p. 569-577, set. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2010.06.001>. Acesso em 20 ago. 2023.

LANGER-GOULD, Annette *et al.* Interferon- $\gamma$ -Producing T Cells, Pregnancy, and Postpartum Relapses of Multiple Sclerosis. **Archives Of Neurology**, [S.L.], v. 67, n. 1, p. 01-16, 1 jan. 2010. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/archneurol.2009.304>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9622213/>. Acesso em: 05 ago. 2023.

LEGORRETA-HAQUET, María Victoria *et al.* Function of Treg Cells Decreased in Patients With Systemic Lupus Erythematosus Due To the Effect of Prolactin. **Medicine**, [S.L.], v. 95, n. 5, p. 2384-2393, fev. 2016. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/md.0000000000002384>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4748869/>. Acesso em: 15 ago. 2023.

LEGORRETA-HERRERA, Martha. The Influence of Prolactin on the Immune Response to Parasitic Diseases. **Advances In Neuroimmune Biology**, [S.L.], v. 7, n. 2, p. 107-114, 31 ago. 2018. IOS Press. <http://dx.doi.org/10.3233/nib-170131>. Acesso em: 10 jul. 2023.

LEGORRETA-HAQUET, M V *et al.* Prolactin down-regulates CD4+CD25hiCD127low/- regulatory T cell function in humans. **Journal Of Molecular Endocrinology**, [S.L.], v. 48, n. 1, p. 77-85, 7 dez. 2011. Bioscientifica. <http://dx.doi.org/10.1530/jme-11-0040>. Disponível em: <https://jme.bioscientifica.com/view/journals/jme/48/1/77.xml>. Acesso em: 10 jul. 2023.

LI, Jun *et al.* Circulating prolactin concentrations and risk of type 2 diabetes in US women. **Diabetologia**, [S.L.], v. 61, n. 12, p. 2549-2560, 11 out. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00125-018-4733-9>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6309828/>. Acesso em: 05 jul. 2023.

LOPEZ-VICCHI, Felicitas *et al.* Chronic high prolactin levels impact on gene expression at discrete hypothalamic nuclei involved in food intake. **The Faseb Journal**, [S.L.], v. 34, n. 3, p. 3902-3914, 16 jan. 2020. Wiley.

<http://dx.doi.org/10.1096/fj.201902357r>. Disponível em:  
<https://faseb.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1096/fj.201902357R>. Acesso em: 16 set. 2023.

LUQUE, Guillermina María *et al.* Chronic hyperprolactinemia evoked by disruption of lactotrope dopamine D2 receptors impacts on liver and adipocyte genes related to glucose and insulin balance. **American Journal Of Physiology-Endocrinology And Metabolism**, [S.L.], v. 311, n. 6, p. 974-988, 1 dez. 2016. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.00200.2016>. Disponível em: [https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpendo.00200.2016?rfr\\_dat=cr\\_pub++0pubmed&url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori%3Arid%3Acrossref.org](https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpendo.00200.2016?rfr_dat=cr_pub++0pubmed&url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org). Acesso em: 06 ago. 2023.

MACARI, Soraia *et al.* Lactation induces increases in the RANK/RANKL/OPG system in maxillary bone. **Bone**, [S.L.], v. 110, p. 160-169, maio 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bone.2018.01.032>. Acesso em: 20 ago. 2023.

MACKERN-OBERTI, Juan Pablo *et al.* Hormonal Modulation of Dendritic Cells Differentiation, Maturation and Function: implications for the initiation and progress of systemic autoimmunity. **Archivum Immunologiae Et Therapiae Experimentalis**, [S.L.], v. 65, n. 2, p. 123-136, 1 set. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00005-016-0418-6>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00005-016-0418-6>. Acesso em: 12 mai. 2023.

MARANO, Robert J.; BEN-JONATHAN, Nira. Minireview: extrapituitary prolactin. **Molecular Endocrinology**, [S.L.], v. 28, n. 5, p. 622-633, 1 maio 2014. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/me.2013-1349>. Disponível em: <https://academic.oup.com/mend/article/28/5/622/2623201?login=false>. Acesso em: 17 set. 2023.

MELMED, Shlomo *et al.* Diagnosis and Treatment of Hyperprolactinemia: an endocrine society clinical practice guideline. **The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism**, [S.L.], v. 96, n. 2, p. 273-288, fev. 2011. The Endocrine Society. <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2010-1692>. Disponível em: <https://academic.oup.com/jcem/article/96/2/273/2709487?login=false>. Acesso em: 12 ago. 2023.

NIELSEN, Jens Høiriis. Beta cell adaptation in pregnancy: a tribute to claes hellerström. **Uppsala Journal Of Medical Sciences**, [S.L.], v. 121, n. 2, p. 151-154, 2 abr. 2016. Uppsala Medical Society. <http://dx.doi.org/10.3109/03009734.2016.1165776>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/03009734.2016.1165776>. Acesso em: 10 jul. 2023.

ORBACH, Hedi *et al.* Prolactin and Autoimmunity. **Clinical Reviews In Allergy & Immunology**, [S.L.], v. 42, n. 2, p. 189-198, 3 fev. 2011. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12016-011-8256-0>. Acesso em: 14 ago. 2023.

ORTONA, Elena *et al.* Sex-based differences in autoimmune diseases. **Annali Dell'Istituto Superiore di Sanità**, [S.L.], v. 52, n. 2, p. 205-212, 1 abr. 2016. Istituto Superiore di Sanità. [http://dx.doi.org/10.4415/ANN\\_16\\_02\\_12](http://dx.doi.org/10.4415/ANN_16_02_12). Disponível em: [https://www.iss.it/documents/20126/45616/ANN\\_16\\_02\\_12.pdf](https://www.iss.it/documents/20126/45616/ANN_16_02_12.pdf). Acesso em: 20 jul. 2023.

ØSTENSEN, Monika *et al.* State of the art: reproduction and pregnancy in rheumatic diseases. **Autoimmunity Reviews**, [S.L.], v. 14, n. 5, p. 376-386, maio 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2014.12.011>. Acesso em: 15 set. 2023.

PAKPOOR, Julia *et al.* Breastfeeding and multiple sclerosis relapses: a metaanalysis. **Journal Of Neurology**, [S.L.], v. 259, n. 10, p. 2246-2248, 23 maio 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00415-0126553-z>. Acesso em: 04 ago. 2023.

PARAIBA, D B *et al.* Lymphocytic prolactin does not contribute to systemic lupus erythematosus hyperprolactinemia. **Clinical And Experimental Rheumatology**, [s. l.], v. 28, n. 6, p. 866-872, nov./dez. 2010. Disponível em: <https://www.clinexprheumatol.org/abstract.asp?a=4013>. Acesso em: 07 jul. 2023.

PARK, Sunmin *et al.* Serum prolactin concentrations determine whether they improve or impair  $\beta$ -cell function and insulin sensitivity in diabetic rats. **Diabetes/Metabolism Research And Reviews**, [S.L.], v. 27, n. 6, p. 564-574, set. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/dmrr.1215>. Acesso em 13 ago. 2023.

PICCINNI, Marie-Pierre *et al.* How pregnancy can affect autoimmune diseases progression? **Clinical And Molecular Allergy**, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 01-09, 15 set. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12948016-0048-x>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5025626/#:~:text=However%2C%20pregnancy%20may%20have%20an,the%20early%20post%2Dpartum%20period..> Acesso em: 22 set. 2023.

PIRCHIO, Rosa *et al.* Metabolic effects of prolactin. **Frontiers In Endocrinology**, [S.L.], v. 13, p. 01-11, 27 set. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2022.1015520>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2022.1015520/full>. Acesso em: 16 set. 2023.

PORTO-NETO, Laercio R. *et al.* Convergent Evolution of Slick Coat in Cattle through Truncation Mutations in the Prolactin Receptor. **Frontiers In Genetics**, [S.L.], v. 9, p. 01-08, 23 fev. 2018. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fgene.2018.00057>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2018.00057/full>. Acesso em: 05 jun. 2023.

PRABHAKAR, V.K.B.; DAVIS, J.R.e.. Hyperprolactinaemia. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**, [S.L.], v. 22, n. 2, p. 341-353, abr. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2007.08.002>. Acesso em: 23 mai. 2023.

RAMÍREZ-DE-ARELLANO, Adrián *et al.* The Relevant Participation of Prolactin in the Genesis and Progression of Gynecological Cancers. **Frontiers In Endocrinology**, [S.L.], v. 12, p. 01-11, 21 out. 2021. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2021.747810>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8566755/>. Acesso em: 26 ago. 2023.

RAMIREZ-HERNANDEZ, Gabriela *et al.* Global Deletion of the Prolactin Receptor Aggravates Streptozotocin-Induced Diabetes in Mice. **Frontiers In Endocrinology**, [S.L.], v. 12, p. 01-12, 5 mar. 2021. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2021.619696>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7973366/pdf/fendo-12-619696.pdf>. Acesso em: 26 jul. 2023.

RAMOS-MARTÍNEZ, Edgar *et al.* Modulatory role of prolactin in type 1 diabetes. **Hormone Molecular Biology And Clinical Investigation**, [S.L.], v. 44, n. 1, p. 79-88, 19 jul. 2022. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1515/hmbci2022-0008>. Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/hmbci2022-0008/html>. Acesso em: 26 ago. 2023.

RIBBONS, Karen Ann *et al.* Male Sex Is Independently Associated with Faster Disability Accumulation in Relapse-Onset MS but Not in Primary Progressive MS. **Plos One**, [S.L.], v. 10, n. 6, p. 01-11, 5 jun. 2015. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0122686>. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0122686>. Acesso em: 14 set. 2023.

SAHA, Subhrajit *et al.* Prolactin alters the mechanisms of B cell tolerance induction. **Arthritis & Rheumatism**, [S.L.], v. 60, n. 6, p. 1743-1752, 28 maio 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/art.24500>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2733916/>. Acesso em: 10 jun. 2023.

SAHA, Subhrajit *et al.* Prolactin, Systemic Lupus Erythematosus, and Autoreactive B Cells: lessons learnt from murine models. **Clinical Reviews In Allergy & Immunology**, [S.L.], v. 40, n. 1, p. 8-15, 24 nov. 2011. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12016-009-8182-6>. Acesso em: 09 ago. 2023.

SAMPERI, Irene; LITHGOW, Kirstie; KARAVITAKI, Niki. Hyperprolactinaemia. **Journal Of Clinical Medicine**, [S.L.], v. 8, n. 12, p. 2203, 13 dez. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/jcm8122203>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2077-0383/8/12/2203>. Acesso em: 16 set. 2023.

SAVINO, Wilson. Prolactin: an immunomodulator in health and disease. **Endocrine Immunology**, [S.L.], n. 48, p. 69-75, 28 fev. 2017. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000452906>. Acesso em: 12 ago. 2023.

SHRIVASTAVA, Vipul *et al.* Beta cell adaptation to pregnancy requires prolactin action on both beta and non-beta cells. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 0114, 14 maio 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-89745-9>. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8121891/>. Acesso em: 02 jun. 2023.

SILVERTHORN, Dee Unglaub. **Fisiologia Humana: uma abordagem integrada**. 7. ed. São Paulo: Simone de Fraga, 2017. 963 p.

SODHI, Ajit; TRIPATHI, Anurag. Prolactin and growth hormone induce differential cytokine and chemokine profile in murine peritoneal macrophages in vitro: involvement of p-38 map kinase, stat3 and nf-kb. **Cytokine**, [S.L.], v. 41, n. 2, p. 162173, fev. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2007.11.007>. Acesso em: 12 jul. 2023.

SONG, G. G.; LEE, Y. H. Circulating prolactin level in systemic lupus erythematosus and its correlation with disease activity: a meta-analysis. **Lupus**, [S.L.], v. 26, n. 12, p. 1260-1268, 22 fev. 2017. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/0961203317693094>. Acesso em: 24 set. 2023.

SONIGO, Charlotte *et al.* Hyperprolactinemia-induced ovarian acyclicity is reversed by kisspeptin administration. **Journal Of Clinical Investigation**, [S.L.], v. 122, n. 10, p. 3791-3795, 1 out. 2012. American Society for Clinical Investigation. <http://dx.doi.org/10.1172/jci63937>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3461919/>. Acesso em: 13 set. 2023.

STANDING, David; DANDAWATE, Prasad; ANANT, Shrikant. Prolactin receptor signaling: a novel target for cancer treatment - exploring anti-prlr signaling strategies. **Frontiers In Endocrinology**, [S.L.], v. 13, p. 01-17, 13 jan. 2023. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2022.1112987>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2022.1112987/full>. Acesso em: 25 jul. 2023.

STEINMAN, Lawrence. Immunology of Relapse and Remission in Multiple Sclerosis. **Annual Review Of Immunology**, [S.L.], v. 32, n. 1, p. 257-281, 21 mar. 2014. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120227>. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-immunol032713-120227>. Acesso em: 05 jun. 2023.

STRUTT, Brenda *et al.* Ontology of the apelinergic system in mouse pancreas during pregnancy and relationship with  $\beta$ -cell mass. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 01-15, 29 jul. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-94725-0>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-94725-0>. Acesso em: 04 jun. 2023.

TANG, Man W. *et al.* Insight into the Endocrine System and the Immune System: a review of the inflammatory role of prolactin in rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 8, p. 01-06, 23 jun. 2017. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2017.00720>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2017.00720/full>. Acesso em: 26 mai. 2023.

TROJANO, Maria *et al.* Geographical Variations in Sex Ratio Trends over Time in Multiple Sclerosis. **Plos One**, [S.L.], v. 7, n. 10, p. 01-09, 25 out. 2012. Public Library

of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0048078>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3485003/>. Acesso em: 02 jul. 2023.

VILAR, Lucio *et al.* Clinical and mri findings among 120 patients with macroprolactinemia: results from a retrospective study. **Endocrine Abstracts**, [S.L.], v. 56, p. 867, 8 maio 2018. Bioscientifica. <http://dx.doi.org/10.1530/endoabs.56.p867>. Acesso em: 06 mai. 2023.

VILAR, Lucio *et al.* Pitfalls in the Diagnostic Evaluation of Hyperprolactinemia. **Neuroendocrinology**, [S.L.], v. 109, n. 1, p. 7-19, 20 mar. 2019. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000499694>. Disponível em: <https://karger.com/nen/article/109/1/7/227221/Pitfalls-in-the-Diagnostic-Evaluation-of>. Acesso em: 12 jul. 2023.

VILAR, Lucio; FLESERIU, Maria; BRONSTEIN, Marcello D.. Challenges and pitfalls in the diagnosis of hyperprolactinemia. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, [S.L.], v. 58, n. 1, p. 9-22, fev. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0004-2730000003002>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abem/a/QrX3s6BHwjc4vFgWhCt7DDDS/?lang=en>. Acesso em: 15 jun. 2023.

WATAD, Abdulla *et al.* Treating prolactinoma can prevent autoimmune diseases. **Cellular Immunology**, [S.L.], v. 294, n. 2, p. 84-86, abr. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cellimm.2014.11.002>. Acesso em: 08 set. 2023.

XU, Yili *et al.* Prolactin-stimulated survivin induction is required for beta cell mass expansion during pregnancy in mice. **Diabetologia**, [S.L.], v. 58, n. 9, p. 2064-2073, 23 jun. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00125-015-3670-0>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00125-015-3670-0>. Acesso em: 20 jul. 2023.

YANG, Xinhai; FRIEDL, Andreas. A Positive Feedback Loop Between Prolactin and Stat5 Promotes Angiogenesis. **Advances In Experimental Medicine And Biology**, [S.L.], n. 846, p. 265-280, 4 dez. 2014. Springer International Publishing. [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-12114-7\\_12](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-12114-7_12). Acesso em: 18 mai. 2023.

YANG, Zhangsheng *et al.* The Chlamydia-Secreted Protease CPAF Promotes Chlamydial Survival in the Mouse Lower Genital Tract. **Infection And Immunity**, [S.L.], v. 84, n. 9, p. 2697-2702, set. 2016. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/iai.00280-16>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4995919/>. Acesso em: 03 out. 2023.

YAZICI, Dilek *et al.* Is there an increased cardiovascular risk in patients with prolactinoma? A challenging question. **Journal Of Clinical Ultrasound**, [S.L.], v. 49, n. 8, p. 870-877, 15 jun. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jcu.23030>. Acesso em: 13 jun. 2023.

YSRRAELIT, María C.; CORREALE, Jorge. Impact of sex hormones on immune function and multiple sclerosis development. **Immunology**, [S.L.], v. 156, n. 1, p. 922,

11 out. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/imm.13004>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6283654/pdf/IMM-156-9.pdf>. Acesso em: 14 maio 2023.

ZHANG, Feng *et al.* Are Prolactin Levels Linked to Suction Pressure? **Breastfeeding Medicine**, [S.L.], v. 11, n. 9, p. 461-468, nov. 2016. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/bfm.2015.0083>. Acesso em: 01 set. 2023.

ZHANG, Pengzi *et al.* Prolactin improves hepatic steatosis via CD36 pathway. **Journal Of Hepatology**, [S.L.], v. 68, n. 6, p. 1247-1255, jun. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2018.01.035>. Acesso em: 14 jul. 2023.

ZHORNITSKY, Simon *et al.* Prolactin in combination with interferon- $\beta$  reduces disease severity in an animal model of multiple sclerosis. **Journal Of Neuroinflammation**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 01-07, 19 mar. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12974-015-0278-8>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4367923/>. Acesso em: 11 maio 2023.

ZHORNITSKY, Simon *et al.* Prolactin in multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis Journal**, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 15-23, jan. 2013. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/1352458512458555>. Disponível em: [https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1352458512458555?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%20%20pubmed](https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1352458512458555?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed). Acesso em: 14 mai. 2023.

# A CRESCENTE CRISE DO USO ILÍCITO DE FENTANIL, OVERDOSE E POTENCIAIS ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS

## THE GROWING CRISIS OF ILLICIT FENTANYL USE, OVERDOSE AND POTENTIAL THERAPEUTIC STRATEGIES

Maria Eduarda Sala Guagnini<sup>1</sup>  
Newton Hashimoto<sup>2</sup>

### RESUMO

Analgésicos são medicamentos mais comumente utilizados para o tratamento de dores ou, até mesmo, em alguns casos, para sedação, tendo como exemplo as substâncias extraídas do ópio. A cada ano, esses fármacos são cada vez mais consumidos de forma ilícita, desencadeando crises de dependência e, até mesmo, overdoses. O Brasil é considerado o maior consumidor de analgésicos da América do Sul, mas estudos apontam que ainda é possível prevenir que alcance uma situação crítica semelhante ao dos Estados Unidos, que enfrentam uma crise com números crescentes de overdose por opióides nos últimos anos. Um dos maiores exemplos é o fentanil, apresentando propriedades mais potentes que a fenoperidina, morfina e heroína, e que de maneira ilegal, pode ser encontrado como pó branco, podendo-se utilizá-lo através de sprays nasais ou comprimidos. O fentanil atua como agonista dos receptores opióides do tipo Mu do sistema nervoso central e periférico, e ao se ligar a eles, gera sensação de recompensa, analgesia, sedação e euforia. A utilização desse fármaco, de maneira legal ou ilícita, gera risco de dependência, necessitando de mais doses para apresentar efeitos semelhantes, podendo levar os usuários a intoxicação severa e até mesmo overdose. Nesses casos, é possível utilizar antagonistas a esses narcóticos (naloxona), para reverter a depressão respiratória causada pelo opióide, a partir da aplicação de pequenas doses e lentamente, até obtenção do efeito desejado.

**Palavras chave:** citrato de fentanila; fentanil; overdose; opióides

### ABSTRACT

Analgesics are medications most commonly used to treat pain or even, in some cases, for sedation, with substances extracted from opium as an example. Each year, these drugs are increasingly illicitly consumed, triggering addiction crises and even overdoses. Brazil is considered the largest consumer of analgesics in South America, but studies show that it is still possible to prevent it from reaching a critical situation like the United States, which has faced a crisis of growing numbers of opioid overdose in the last years. One of the greatest examples is fentanyl, having more potent properties than phenoperidine, morphine and heroin, and which illegally can be found as a white powder, which can be used through nasal sprays or tablets. Fentanyl acts as an agonist of Mu-type opioid receptors in the central and peripheral nervous system, and upon

<sup>1</sup> Discente do curso de Biomedicina pelo Centro Universitário Filadélfia-Unifil. E-mail: dudaguagnini@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Professor Orientador. Docente do Curso Superior de Biomedicina no Centro Universitário Filadélfia – Unifil. Email: newton.hashimoto@unifil.br

binding to them, generates a sensation of reward, analgesia, sedation and euphoria. The use of this drug, legally or illegally, generates a risk of dependence, requiring more doses to present similar effects, which can lead users to severe intoxication and even overdose. In these cases, it is possible to use antagonists to these narcotics (naloxone) to reverse the respiratory depression caused by the opioid, starting from the application of small doses and in a slow way, until obtaining the desired effect.

**Key words:** fentanyl; fentanyl citrate; overdose; opioids.

## 1 INTRODUÇÃO

Para o tratamento da dor é utilizado analgésicos comuns, analgésicos opióides, analgésicos adjuvantes ou anti-inflamatórios não hormonais. Farmacologicamente, podem atuar no local da dor, ou seja, em níveis periféricos, ou em sítios específicos localizados no sistema nervoso central (FLORES; CASTRO; NASCIMENTO, 2012), podendo ser divididos basicamente em dois grupos, os analgésicos não narcóticos e os narcóticos (UEMS, [s.d.]).

Os medicamentos não narcóticos agem a nível periférico, sendo, portanto, indicados principalmente para dores leves a moderadas (UEMS, [s.d.]). Esse tipo de medicamento pode ser encontrado em farmácias e compradas sem o uso de receitas médicas, como por exemplo, dipirona sódica, ácido acetilsalicílico e paracetamol (UEMS, [s.d.]). Os medicamentos narcóticos são responsáveis pelo alívio de dores moderadas a intensas, e atuam em receptores específicos que, ao serem ativados, interferem na transmissão de impulsos dolorosos, atuando como depressores do sistema nervoso central, fazendo com que o cérebro diminua a sua atividade, passando a funcionar mais devagar, deprimindo os centros da dor. São exemplos de medicamentos narcóticos o sulfato de morfina, cloridrato de tramadol, oxicodona e o fentanil (UEMS, [s.d.]).

Historicamente muitas substâncias com atividade farmacológica com aplicação terapêutica à dor foram extraídas de plantas, e dentre aquelas se encontra a *Papaver somniferum* (Papoula do Oriente). Através de cortes na cápsula da papoula, é possível obter um suco leitoso, o ópio, que quando seco, passa a se chamar pó de ópio. Nele existem várias substâncias com potentes propriedades farmacológicas (CEBRID, 1987), como a codeína e a morfina, sendo essa última a mais conhecida, e com uma pequena modificação química em sua fórmula obtém-se a heroína e o fentanil

(CEBRID, 1987; JUNIOR et al., 2020).

Nos últimos anos, houve um acentuado aumento no número de mortes por overdose relacionadas a opióides, principalmente na América do Norte e na Europa. O uso de opióides nos Estados Unidos cresceu exponencialmente na última década e se tornou um grande problema de saúde pública (CHUA et al., 2011). É possível estimar que, durante o ano de 2017, aconteceram mais mortes nos Estados Unidos por overdose de opióides do que durante toda a guerra do Vietnã (RASMUSSEN et al., 2019). Dessa maneira, opióides fortes, como fentanil, têm protagonismo nos casos de morte por esse tipo de medicamento (CHENAF et al., 2019, SCHUELER, 2017).

Todos os anos, novos compostos sintéticos são introduzidos no mercado de drogas ilícitas. Entre 2009 e 2017, 62 novos compostos opióides sintéticos foram identificados no mundo, sendo 48 destes derivados do fentanil (UNODC, 2019).

Os principais fatores de risco que normalmente favorecem o uso ilícito e contribuem no desenvolvimento da dependência por opióides são a idade entre 18-24 anos; queixa subjetiva de dor constante em determinada parte(s) do corpo no intuito de justificar o uso constante do opioide; uso abusivo de álcool ou drogas ilícitas, presença de transtornos psiquiátricos associada ao uso de psicotrópicos, aumento do grau de tolerância à dor, antecedente criminal, tabagismo, entre outros (LEAL, 2020). Além disso, a facilidade na obtenção da droga através de amigos ou pela internet, ou mesmo a síntese clandestina de forma caseira, uma vez que os equipamentos e os materiais se encontram facilmente disponíveis online com baixo custo, proporcionaram o aumento significativo do seu consumo (PULCHINELLI, 2012).

O caso de overdose que teve grande repercussão no cenário artístico foi a morte do cantor Prince aos 57 anos, no dia 21 de abril de 2016. O cantor foi declarado morto após ser encontrado desacordado no elevador da casa em que morava, Paisley Park, e faleceu devido a uma overdose de medicamentos opióides, utilizados para tratar fortes dores nos quadris. A causa de sua morte foi evidenciada através de um exame de toxicologia, onde foi possível observar a presença de uma quantidade excessivamente alta de fentanil em seu organismo (FERREIRA, 2018).

O objetivo deste trabalho foi compreender o mecanismo farmacológico do fentanil sob o aspecto do desenvolvimento de dependência no seu uso inadequado e as consequências nos casos de overdose, assim como demonstrar o perigo e as

consequência que a ingestão descontrolada da prática da automedicação pode trazer para a saúde e a sobrevivência dos usuários.

## **2 METODOLOGIA**

O trabalho proposto foi desenvolvido através de revisões bibliográficas de caráter qualitativa e exploratória, utilizando como ferramenta o uso de fontes de sites como NCBI, Scielo e PubMed por meio de palavras chaves: citrato de fentanila, fentanil, overdose, opióides. Os artigos científicos selecionados para a utilização da pesquisa foram os que preferencialmente estavam dentro do período de sua publicação dos últimos 10 anos.

701

## **3 DESENVOLVIMENTO**

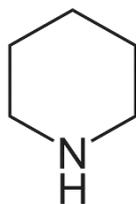
### **3.1 Histórico**

O uso do ópio acompanhou o desenvolvimento da civilização nos períodos históricos muito distantes. A aplicação do ópio como narcótico foi reconhecida primeiramente por Hipócrates em 460 a.C (LEAL, 2020) e utilizado desde então por diversas autoridades importantes (DUARTE, 2005).

Em 1803, o farmacêutico alemão Friedrich Wilhelm Adam Serturner conseguiu sintetizar a morfina, o que permitiu, a partir de 1827, a produção industrial deste fármaco (BICCA et al., 2012). Anos mais tarde, em 1902, a estrutura da morfina foi elucidada e, a partir de modificações de sua molécula, muitos compostos semissintéticos e sintéticos foram desenvolvidos (MARINHO; SILVA, 2020; SKULSKA et al., 2005).

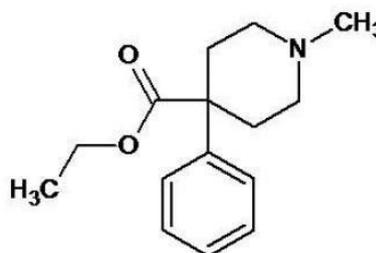
Um dos interesses do fundador da empresa Janssen Pharmaceutica, Dr. Paul Janssen, era criar analgésicos potentes, eficazes e de rápida ação para tratar problemas de dor da época de 1953. Nesse mesmo ano, como a morfina e a meperidina já eram bem conhecidas e acessíveis, o Dr. Janssen e seus colegas acreditavam que o anel de piperidina, presente em ambas moléculas, era a estrutura química mais importante que levava a analgesia (STANLEY, 2014).

**Figura 1** - Anel de piperidina.



**Fonte:** Boyd e Morrison (1998).

**Figura 2** - Estrutura da meperidina.



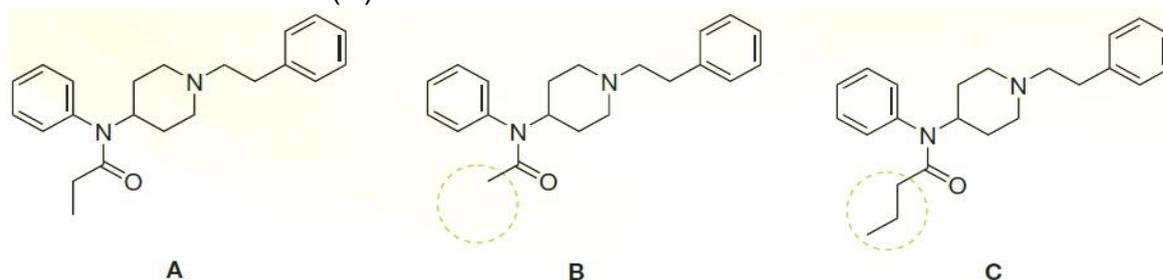
**Fonte:** Bulcão et al. (2012).

Então, começaram a trabalhar com a meperidina, pois é uma molécula menos complexa e mais fácil de manipular, como a molécula-mãe para a produção de novas e mais poderosas moléculas analgésicas (STANLEY, 2014).

Dr. Janssen percebeu que tanto a morfina quanto a meperidina eram analgésicos pobres e de início lento pois não conseguiam penetrar o sistema nervoso central com facilidade. Portanto, eles chegaram à conclusão de que precisavam sintetizar outros derivados lipossolúveis. Para isso, eles começaram a adicionar/substituir diversas estruturas químicas, como átomos de nitrogênio (N), anéis benzênicos, grupos metil ou etil, para a obtenção de uma maior potência (STANLEY, 2014).

Assim, entre 1953 e 1957, muitos potentes analgésicos lipossolúveis foram criados pela equipe da Janssen e, em agosto de 1957, a fenoperidina foi sintetizada, sendo 25 vezes mais forte que a morfina e mais de 50 vezes mais forte do que a meperidina. A equipe de pesquisa da Janssen continuou a criar novas moléculas relacionadas à fenoperidina e então, em 1960, foi sintetizado pela primeira vez o fentanil. Foi descoberto que o fentanil era mais de 10 vezes mais potente que a fenoperidina e de 100 a 200 vezes mais potente que a morfina (STANLEY, 2014).

**Figura 3** - Estrutura do fentanil (A) e seus análogos estruturais acetilfentanil (B) e butirfentanil (C).



Fonte: UNODC, 2017.

Como demonstrado na figura acima (Figura 3), as inúmeras possibilidades de criar novos compostos por pequenas mudanças na estrutura química representam um desafio cada vez maior para o controle internacional de drogas (MARINHO; SILVA, 2020; SKULSKA et al., 2005).

### 3.2 Epidemiologia do uso ilícito

O levantamento da Organização das Nações Unidas (ONU) avalia que 271 milhões de pessoas entre 15 e 64 anos utilizaram algum tipo de droga ilegal nos últimos anos. Desse número, aproximadamente 53 milhões de pessoas no mundo consomem alguma substância derivada de opióides (UNODC, 2019).

A América do Norte enfrenta, atualmente, uma crise atribuída a opiáceos como a heroína e, principalmente, aos análogos do fentanil, causando epidemias de morte por overdose. Relatórios indicam que a chance de ocorrer overdose por fentanil é duas vezes maior do que no uso da heroína, sendo até 50 vezes mais potente que a heroína (Figura 4). Esse problema surgiu no fim dos anos 70, quando o fentanil e seus análogos começaram a ser utilizados como drogas ilícitas, com notórios casos acidentais de overdose (UNODC, 2019).

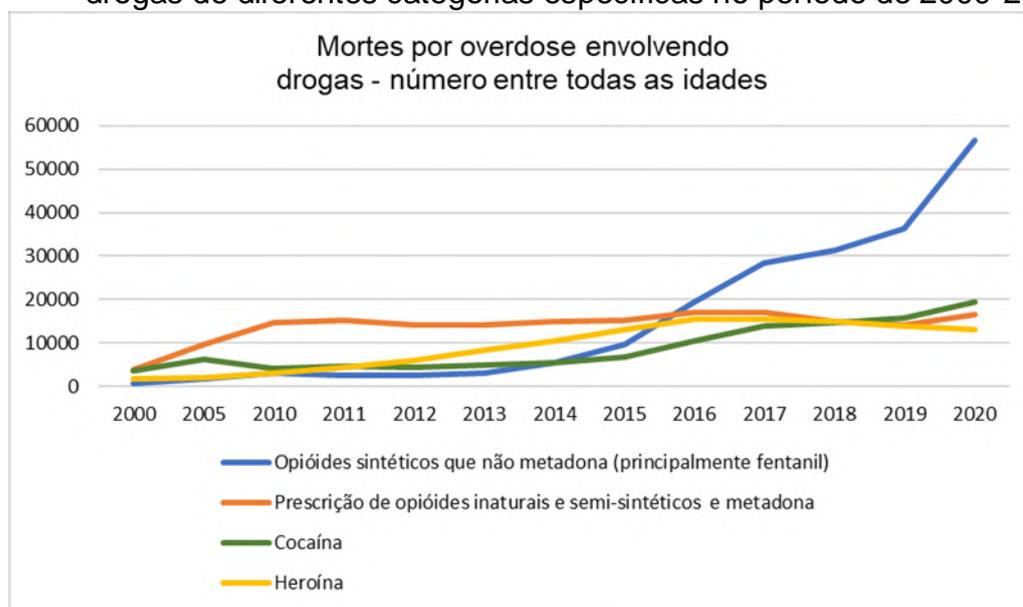
**Figura 4** - Dose letal de heroína e dose letal de fentanil.



**Fonte:** Laboratório Forense da Polícia Estadual de New Hampshire NIST. Detecção e Identificação de Opióides. Disponível em: <https://www.nist.gov/programs-projects/opioiddetection-and-identification>. Acesso em: 09 ago. 2022.

No início da década de 1980, foram relatados os primeiros casos de morte relacionados ao uso ilícito de fentanil, tendo essas acometidas esporadicamente nos Estados Unidos. Em 2006, foi possível notar um aumento na ocorrência das mortes atribuídas ao uso do fentanil ilicitamente, onde em seis estados norte-americanos foi observado um total de 1.013 mortes de 4 de abril de 2005 a 28 de março de 2007. Desde então, o número relacionado a mortalidade devido ao uso de opióides mais que dobrou entre os anos de 2012 e 2014, apresentando valores que variam de 2.628 para 5.544 (HAN et al., 2019). Nos anos entre 2015 e 2020, o número de mortes por overdose de opióides sintéticos, principalmente o fentanil, aumentou em 6 vezes, como é possível observar no Gráfico 1 abaixo (NIDA, 2022). Mais recentemente, entre abril de 2020 e abril de 2021, os EUA bateram recorde no número de óbitos por overdose, alcançando o número de 100.306 mortes, sendo a maioria das vítimas usuárias de opióides, principalmente fentanil (CDC, 2021).

**Gráfico 1** - Números de óbitos nos Estados Unidos causados por superdosagem por drogas de diferentes categorias específicas no período de 2000-2020.



**Fonte:** modificado de CDC WONDER.

\*Inclui mortes com causas subjacentes de intoxicação não intencional por drogas, suicídio por envenenamento por drogas, homicídio por intoxicação por drogas ou intoxicação por drogas de intenção indeterminada, conforme codificado na International Classification of Diseases, 10th Revision Source: Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Health Statistics. Multiple Cause of Death 2000-2020 on CDC WONDER Online Database, released 12/2021.

Já no Canadá, entre os anos de 2009 e 2014, foram encontradas, pelo menos, 655 mortes registradas associadas ao uso dessa substância, e na Austrália, entre 2000 e 2012, no mínimo 123 mortes provocadas pela sua utilização (ONU, 2017).

Dos países da América do Sul, o Brasil é o maior consumidor de analgésicos opióides (PULCHINELLI, 2012). Um estudo demonstrou que 1,3% da população brasileira faz uso de medicamentos opióides, sendo a prevalência de dependência no país estimada de 22,7% (LEAL, 2020). Estes números sugerem, portanto, que o risco do uso de fentanil, que resulta no quadro de dependência, está limitado aos pacientes após longo tratamento médico e aos profissionais de saúde que possuem fácil acesso à droga (LEAL, 2020). Contudo, o país tem demonstrado um aumento crescente no consumo de medicamentos opiáceos. Estudos indicam que o número de medicamentos opiáceos vendidos nas farmácias em 2009 foi de 1.601.043, e em 2015 passou a 9.045.945, o que representa um aumento de 465%. Além disso, o aumento percentual das vendas de medicamentos compostos de codeína foi de 95%, pulando de 1.584.372 prescrições para 8.872.501 receitas médicas, para o mesmo período

citado acima (KRAWCZYK, 2018).

Os médicos apontam que o país se encontra em uma situação onde ainda é possível prevenir uma realidade crítica como a dos Estados Unidos e para isso, é preciso investir em informações à população que ainda não conhece o fármaco e aos médicos sobre formas corretas de administração, ao manejar esse tipo de medicamento para o tratamento da dor, além de medidas regulatórias que permitam um melhor controle das prescrições desses medicamentos. No Brasil, o uso da morfina e seus derivados é muito menor quando comparado com outros países, sendo 3mg per capita no Brasil contra, aproximadamente, 20mg nesses países. Esse panorama de relativo baixo consumo é causado pelo acesso limitado às prescrições de medicamentos opióides nos países, causada por diversos fatores como a desestruturação do serviço público de saúde, a falta de padronização da prática médica em relação a esse tipo de medicamento e a baixa renda de boa parte da população. Contudo, conforme os números dos relatórios indicados acima, nos últimos anos, o consumo dos medicamentos opióides tem aumentado no Brasil, devido principalmente ao seu uso nos tratamentos de doenças como câncer e dores crônicas (KRAWCZYK et al., 2018).

### **3.3 Propriedades farmacológicas do fentanil**

Pode-se dividir os opioides em 4 classes químicas: os fenantrenos como a morfina, codeína e oxicodona; os benzomorfanos apresentando a pentazocina como único exemplo; as fenilpiperidinas que incluem o fentanil, alfentanil, remifentanil, sufentanil, carfentanil; e os difenilheptanos que incluem o propoxifeno e metadona (KOPECKY, 2019).

O fentanil é um agonista dos receptores mu-opioides que possui efeito analgésico no sistema nervoso central e se caracteriza pelas propriedades de rápida ação, curta duração e elevada potência. As propriedades lipofílicas deste fármaco permitem atingir rapidamente o sistema nervoso central (SNC) e se ligar aos receptores, podendo elevar os níveis de dopamina em áreas de recompensa do cérebro e produzir um estado de euforia e relaxamento (BRUNTON; HILAL-DANDAN; KNOLLMANN, 2018).

As drogas lipossolúveis se ligam mais às proteínas do que as de caráter hidrossolúvel para serem transportados pelo organismo, portanto, o fentanil se liga à

albumina, glicoproteínas  $\alpha$ 1-ácida, globulinas e também às globulinas vermelhas (FERNANDES, 1994). Além disso, devido a essa natureza lipossolúvel, o fentanil consegue atravessar a barreira hematoencefálica e a placenta (COOPER et al., 1999).

A sua meia-vida de eliminação é de 3 a 12 horas, sendo biotransformado no fígado e eliminado pelos rins (BRUNTON; HILAL-DANDAN; KNOLLMANN, 2018). O fentanil é um medicamento que possui alto grau de extração hepática, sendo metabolizado em diferentes metabólitos inativos. A primeira etapa da biotransformação hepática do fentanil ocorre no citocromo P450, através de reações de oxidação, como N-desalquilação, sendo que essa acontece em 99% do fármaco, e alquil hidroxilação, e reações de redução, como a hidrólise amida, seguida da segunda etapa de conjugação, através dos processos de O-glicuroconjugação e conjugação com sulfato (FERNANDES, 1994).

A inexistência de metabólitos ativos faz com que o uso do fentanil apresente menores efeitos adversos que outros analgésicos (DEPRIEST et al., 2015). Por fim, 75% de uma dose desse opiáceo é excretado na urina com menos de 7% inalterado, e 9% é excretado pelas fezes com menos de 1% inalterado, tudo dentro de 72 horas (FENTANYL, 2005). A estrutura do fentanil é relacionada com a meperidina e apresenta a fórmula molecular N-(1-fenetil-4-piperidil) propionanilida, de peso molecular equivalente a 528,29, um ponto de fusão de 148,5 a 150°C e formulado como um citrato para fins comerciais (PENG; SANDLER, 1999).

A principal apresentação farmacêutica do fentanil para fins terapêuticos é solução injetável, mas pode-se encontrar na forma de comprimidos e adesivos plásticos (CITRATO DE FENTALINA [BULA], 2022). De acordo com seu formulário de prescrição, o fentanil pode ser encontrado por outros nomes comerciais, como o Actiq®, Duragesic®, e Sublimaze® (NIDA, 2021).

De maneira ilegal, ele é vendido como um pó cristalino branco e solúvel, colocados em papel mata-borrão, mais conhecido como *paper trips*, onde o fentanil é impregnado em finos pedaços de papelão. Também podem ser comercializados na forma de conta gotas, sprays nasais ou então, transformados em comprimidos (NIDA, 2021).

O fentanil, quando prescrito por um médico, pode ser administrado por quatro diferentes vias dependendo da indicação. As vias em que o fentanil pode ser

administrado são a via epidural, intramuscular, intravenosa, transmucosa oral, ou adesivo transdérmico (CITRATO DE FENTALINA [BULA], 2022).

De maneira geral e legal, as injeções intravenosas e intramusculares são mais indicadas para casos de analgesia a curto prazo, assim como durante induções, manutenções e recuperações de anestesia geral ou local. Além disso, podem ser utilizadas com neuroleptico para pré medicação, indução ou como adjuvante na manutenção da anestesia (DEPRIEST et al., 2015). No caso da analgesia por via epidural, a administração é feita em combinação com a bupivacaína. O fentanil nas formas transdérmico e transmucoso oral são indicados para tratar dores crônicas e dores agudas em pacientes em terapia transdérmica concomitante, respectivamente. A utilização deste fármaco está associada ao risco de abuso e dependência, não se devendo misturar-lo com álcool ou benzodiazepínicos (LOFTON et al., 2005).

Após sua administração por via intramuscular, o fármaco apresenta início de sua ação de 7 a 8 minutos e a duração dessa ação é de 1 a 2 horas (CITRATO DE FENTALINA [BULA], 2022).

Sendo considerado um dos opióides mais utilizados por meio da via peridural, o fentanil apresenta um início de ação rápido e com analgesia de duração entre 4 e 8 horas (PRIVADO et al., 2004).

Ao ser administrado por via intravenosa, o fentanil inicia sua ação quase imediatamente, podendo ter seu efeito analgésico máximo, junto com o efeito depressor respiratório em poucos minutos, apresentando uma ação analgésica com duração de 30 a 60 minutos (CITRATO DE FENTALINA [BULA], 2022; PENG; SANDLER, 1999).

O fentanil administrado por via transdérmica apresenta uma concentração plasmática constante durante um período de até 72 horas no período de aplicação do adesivo transdérmico. É um método seguro e de maior facilidade, já que não é necessário a utilização de agulhas, apresentando assim vantagens como a praticidade na administração e a não dependência de um acesso venoso. Esse método é utilizado para o controle de dores crônicas e prolongadas, tendo a substância liberada de maneira devagar na pele, apresentando uma distribuição de longa duração (ARAÚJO et al., 2011).

Devido à presença de apenas duas camadas de células que separam o lúmen

nasal do sistema sanguíneo vascular da mucosa, a administração por via transmucosa apresenta uma ótima absorção pela mucosa nasal. Possui período médio de efeito de 30 minutos e um pico de ação com apenas 7 minutos, e não apresenta metabolização no fígado ou decomposição no trato gastrointestinal, além disso, para a aplicação da substância dessa maneira, não é necessário grande treinamento, habilidades especiais, aparatos para punção venosa, evitando lesões devido ao uso de agulhas, enriquecendo, portanto, a satisfação e tratamento dos pacientes (FONTANELA; TAFFAREL; LAZARI, 2017).

Pode-se encontrar derivados de opióides em concentrações bem baixas em material biológico, não sendo possível realizar sua identificação durante triagens, a partir de procedimentos convencionais de rotina, sendo preciso o uso de métodos mais sofisticados para determinação direta deste grupo de compostos. Um desses métodos é utilizado para identificar e quantificar a fentanila em alguns casos forenses, que consiste da cromatografia líquida acoplada a um espectrofotômetro de massas (CLAE/EM). Normalmente nesses casos ocorre de pacientes receberem uma dose de fentanila como adjuvante à anestesia para a realização de uma cirurgia e acabam por falecer após o procedimento, sendo então utilizado esse método direto para análise de amostras de sangue, bile e do pulmão desses pacientes, colhidas depois da necropsia (BULCÃO et al., 2012).

### **3.4 Mecanismo do fentanil no controle da dor e da gênese da dependência e da overdose**

A dor pode ser definida como uma sensação ou experiência emocional não mais tolerável, acompanhada de dano tecidual real ou potencial, e pode-se classificá-la de acordo com seu mecanismo fisiopatológico. A dor nociceptiva ocorre quando os receptores de dor são ativados logo após algum tipo de lesão, em tecidos ósseos, musculares ou em ligamentos. A dor neuropática acontece devido à lesão ou disfunção do sistema nervoso. E por fim, a dor mista, é uma mistura da dor nociceptiva e neuropática, ou seja, quando afeta estruturas musculoesqueléticas, gera dor nociceptiva, e quando associada a compressão de nervos e raízes, gera dor neuropática (LEAL, 2020).

O mecanismo da dor normalmente se inicia quando ocorre uma lesão a

determinado tecido ou órgãos e isso leva a ativação dos nociceptores, que são neurônios sensoriais que transformam o estímulo agressivos em sinais que são transmitidos pelo sistema nervoso periférico até o sistema nervoso central e causam a percepção da dor (ROCHA et al., 2007). A sensibilização dos nociceptores leva a abertura de canais de cátions excitatórios que produzem correntes despolarizantes ao longo do axônio sensorial até o corno dorsal da medula espinhal, sendo, posteriormente, esses impulsos transmitidos aos neurônios espinhais ascendentes, tronco cerebral, tálamo e córtex (LEAL, 2020).

Os opióides exercem efeitos inibitórios tanto no encéfalo, quanto através do aumento do limiar nociceptivo das fibras da substância gelatinosa localizada no corno posterior da medula espinhal (FLORES; CASTRO; NASCIMENTO, 2012). Os neurônios aferentes primários, quando estimulados pelos opióides, diminuem a liberação de substância P (uma substância que facilita o processo de nocicepção), contribuindo no controle da dor (ROCHA et al., 2007).

O fentanil possui atuação como agonista dos receptores do tipo Mu ( $\mu$ ), sendo estes receptores opióides específicos pré-sinápticos ou pós-sinápticos, estabelecidos geralmente no cérebro e na medula espinhal (sistema nervoso central), e também no sistema periférico (PULCHINELLI, 2012).

Os receptores Mu apresentam-se em dois subtipos: o subtipo 1, que é responsável pelos sintomas de analgesia, euforia e depressão respiratória; e o subtipo 2, que medeia efeitos gastrintestinais, como obstipação (PULCHINELLI, 2012).

O fentanil se liga nesses receptores  $\mu$ , acoplados às proteínas G, e ao ativar esses receptores, faz com que o GTP seja alterado para GDP nas proteínas G, que atuam regulando negativamente a adenilato ciclase, levando a redução da concentração de AMPc. Essa diminuição acarreta a redução do influxo dependente de cAMP de íons de cálcio na célula. Além disso, essa troca do GTP pelo GDP, resulta em hiperpolarização celular e inibição da atividade nervosa (BRUNTON; HILALDANDAN; KNOLLMANN, 2018). A abertura dos canais pós sinápticos de potássio (K<sup>+</sup>) pelos opióides faz com que apareça, nos neurônios do corno dorsal medular, potenciais inibitórios de hiperpolarização (LEAL, 2020).

Outro ponto a se considerar é que os receptores  $\mu$  são essenciais para os circuitos cerebrais de recompensa, devido a sua habilidade de gerar sensação de

euforia, e apresentando um importante papel no comportamento com direcionamento aos objetivos, como a própria atitude de busca das drogas por prazer. Além disso, esses receptores estão distribuídos em áreas que fazem parte das redes de dor e recompensa, e em regiões responsáveis pela regulação das emoções, onde a exposição aos opióides, por longos períodos de tempo, está associada à depressão e ansiedade (WANG et al., 2019).

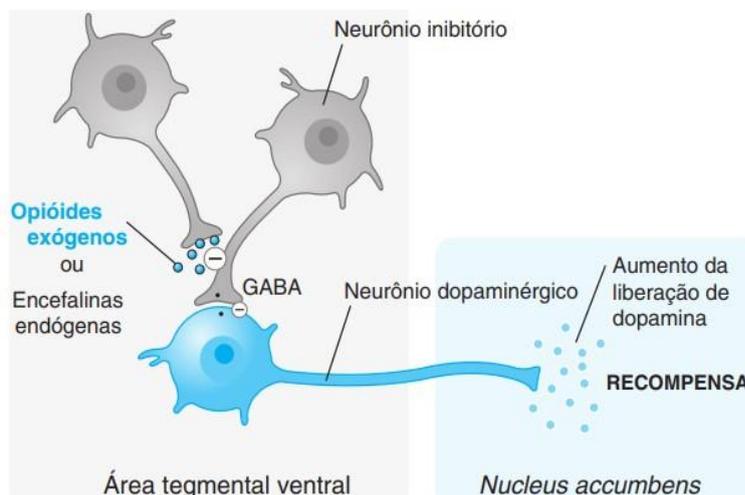
A ação agonista dos receptores  $\mu$  são responsáveis pela analgesia, sedação, constipação, náuseas e por efeitos que provocam sensação de satisfação. A partir do momento em que o vício por esse opioide se torna crítico, passa a ocorrer comprometimento de cognição, levando os indivíduos a realizar decisões ruins, mudando os comportamentos direcionados a objetos para comportamentos habituais, como pela vontade e busca constante pela droga. Diversos estudos apontam que, a medida que é desenvolvida tolerância, se inicia uma busca compulsiva para obter cada vez mais o opióide, ocasionando como consequência, a homeostasia dos circuitos de recompensa dos neurônios, além de comprometer a capacidade social dos usuários (WANG et al., 2019).

Modificações funcionais e estruturais cerebrais ocorrem quando há exposição crônica à droga, interferindo no efeito, impulso, motivação e recompensa. Além de tudo, interrompem circuitos essenciais para o córtex pré-frontal realizar sua atividade na autorregulação, chamado de circuitos estriato corticais, e essa interrupção pode ser associada à compulsividade e impulsividade do vício. No caso da interrupção dos circuitos das amígdalas, o indivíduo se torna vulnerável a transtornos psíquicos, devido a sua função de regular as emoções e o estresse (WANG et al., 2019).

O sistema cerebral de dopamina é essencial para o neurocircuito de recompensa do cérebro, e o vício à essas drogas pode ser acionado quando os opióides causam a elevação dos níveis de dopamina no núcleo accumbens. As alterações nos circuitos dopaminérgicos dos gânglios da base, amígdalas estendidas e córtex pré-frontal equivalem aos estágios de compulsão ou intoxicação, desejo e abstinência, que são típicos de transtornos relacionados a utilização dessas substâncias (WANG et al., 2019). Por outro lado, essa recompensa também pode ocorrer através da ativação de receptores opióides distribuídos em interneurônios GABAérgicos, que podem ser encontrados na área tegmentar ventral (ATV)

mesencefálica. A estimulação desses receptores, desencadeia a supressão da atividade neuronal GABAérgica e, uma consequente desinibição dos neurônios de dopamina (YOU et al., 2019).

**Figura 5** - Papel dos opióides na via de recompensa encefálica.



Fonte: Swift e Lewis (2009)

Após uma brusca suspensão dos opióides, desenvolvem-se sinais somáticos de abstinência e de respostas afetivas e motivacionais negativas, definindo assim, a dependência física. Inúmeros estudos mostram que os neurônios do locus coeruleus noradrenérgico (LC) apresentam receptores  $\mu$  e sugerem que participam dos sintomas presentes no começo da retirada dos tóxicos. Diante da ligação dos opióides com os receptores  $\mu$  presentes no LC, acontece uma inibição na atividade desses neurônios, com bloqueio da proteína adenil ciclase, ocasionando sintomas como hipotensão, sonolência e diminuição do ritmo da respiração. Além disso, a utilização frequente dos opióides provoca tolerância progressiva da adenil ciclase, fazendo com que sua abrupta retirada leve a liberação excessiva nos neurônios da LC de noradrenalina, resultando em sintomas de abstinência (YOU et al., 2019).

Os pacientes desenvolvem tolerância muito rapidamente, precisando de doses sempre mais altas, elevando o risco de dependência, depressão respiratória e aumentando as chances de overdose (LEAL; ALENCAR, 2020).

As overdoses causadas pela maioria das substâncias tóxicas depressoras, como os opióides e benzodiazepínicos, causam depressão respiratória, devido aos seus encaixes em receptores específicos que comandam a respiração. Se haver

ausência da respiração ou se a respiração não está sendo suficiente, os níveis de oxigênio no sangue acabam diminuindo e os lábios e dedos ficam azulados (cianose). Além disso, outros órgãos podem não receber oxigênio, afetando seu funcionamento, como o coração e o cérebro (hipóxia), levando à inconsciência, coma e podendo desencadear à morte (ABCMED, 2019).

### **3.5 Aspectos clínicos da dependência e a problemática das intoxicações agudas e overdose por fentanil**

713

É possível separar os usuários de drogas em usuários clínicos, onde ocorre o abuso de analgésicos em clínicas, e os usuários de rua, sendo os que utilizam de fontes não médicas e aqueles que obtêm o medicamento de maneira legal (PULCHINELLI, 2012).

Algumas causas são determinantes da experimentação das drogas e do risco de psicopatia, como: a disponibilidade da droga, normas sociais, vulnerabilidade e transtornos psiquiátricos. Com a experimentação da droga, os usuários percebem que elas favorecem a eliminação de alguns estados desagradáveis como, dor, ansiedade e depressão (reforço negativo), acabando por estimular a auto administração (reforço positivo) (PULCHINELLI, 2012).

O uso do fentanil se tornou popular por ser um analgésico de até cem vezes mais potente que a morfina, possuindo efeitos anestésicos e sedativos (UNODC, 2017). É um medicamento controlado e indicado para casos de dor intensa, principalmente, em pós operatórios (JUNIO, 2021). Durante o curso do tratamento médico, existe o risco de dependência durante o uso prolongado do medicamento. Esse cenário deve-se muito à iatrogenia, que pode ser definida como qualquer alteração patológica provocada no paciente pela má prática médica, onde estudos comprovam a falta de cuidado com a prescrição dos opioides (KRELING et al., 2017). Além da falta de cuidados com a prescrição que possibilitam o surgimento de dependência, também é possível observar a falta de preparo dos profissionais de saúde que tendem a ceder à coação dos pacientes, que pedem usando a justificativa de suprir a dor no disfarce de aliviar o vício (KRELING et al., 2017). Portanto, é possível associar a iatrogenia com o acarretamento de inúmeras complicações, como

a dependência e complicações fisiológicas (BENYAMIN et al., 2008).

Outro aspecto da dependência é o uso ilegalmente do fentanil por pessoas com finalidade recreativa, sendo, portanto, consumido sem prescrições médicas para fins não medicinais, que o adquirem por meio de intermediários ou mesmo o produzem em laboratórios (feitos em casas, por exemplo), sendo essa maneira a mais frequentemente associada a overdoses acidentais (JUNIO, 2021).

O avanço típico para os usuários de drogas ilícitas inicia com períodos de abstinência, sendo ela forçada ou voluntária, por hospitalização ou detenção, respectivamente, e dura algumas semanas ou meses, geralmente acompanhado por recaídas (PULCHINELLI, 2012).

A tolerância é considerada a capacidade que as células possuem para se adaptar à interferência de determinada droga em suas funções, através de mecanismos compensatórios alternativos, para assim, voltar a ter uma atividade aparentemente normal (CLÍNICA HOSPITALAR RECANTO, 2022).

A administração frequente e constante da droga pode causar inativação do receptor, por endocitose e/ou degradação dos receptores superficiais da célula. Outro modo de tolerância é a elevação da capacidade de metabolizar ou excretar o tóxico. Geralmente, esse aumento do metabolismo pode ser atribuído à síntese induzida de enzimas metabólicas, como por exemplo, o citocromo P450, onde a tolerância farmacocinética resulta em uma menor concentração da droga no plasma, independente da dose (SWIFT; LEWIS, 2009).

Quando o efeito do fármaco diminui, há a necessidade do aumento da dose do mesmo para apresentar o mesmo efeito. Essa tolerância pode levar aos casos de dependência, onde a busca pelos opióides se intensifica na intenção de obter os efeitos de euforia e, ao mesmo tempo, evitar os sintomas desagradáveis da abstinência (SWIFT; LEWIS, 2009).

A Síndrome de Abstinência manifesta sintomas como náuseas, diarreia, insônia, câimbras, sudorese, dores ósseas, calafrios, cólicas abdominais, ansiedade, irritabilidade (LEAL; ALENCAR, 2020), dores articulares e musculares, frequência cardíaca aumentada, hipertensão, pupila dilatada e elevação da frequência respiratória, cólicas gastrointestinais, fotofobia, hiperalgesia e depressão (MARTIN, 2008).

A intoxicação por fármacos da classe dos opióides é ocasionada quando o uso da substância excede a dose da janela terapêutica, gerando efeitos tóxicos ao organismo (ABC DA ENFERMAGEM, 2020). Quando atingem valores excessivos, pode-se surgir sintomas como náuseas, euforia ou disforia, diminuição da consciência, sensação de calor, boca seca, constrição da pupila, sonolência, depressão respiratória, tudo isso além de sua ação farmacológica principal, a analgesia e anestesia. Quando a intoxicação passa para a fase grave, pode levar ao aparecimento de depressão respiratória, hipotensão, apneia, cianose, arreflexia, taquicardia e até levar à morte (Tabela 1) (MARTIN, 2008).

Alguns aspectos da toxicidade pelo uso indevido do fentanil são influenciados pelo tipo de via de administração, bem como pelas condições sociais do usuário quanto a qualidade do produto consumido e a dose aplicada (PULCHINELLI, 2012).

A utilização errônea desses produtos pelas diversas vias de administração, como utilizar os adesivos transdérmicos de maneira direta nas mucosas ou com a extração do ativo a partir do adesivo para uso via intranasal ou endovenosa, pode levar os usuários a uma severa intoxicação devida à perda do controle da dose fornecida ao organismo (TABARRA et al., 2019).

**Tabela 1 - Sinais e sintomas de intoxicação e abstinência de opióides**

Intoxicação	Abstinência
Ativação ou “ímpeto” (baixas dosagens) e sedação/apatia (altas dosagens)	Humor deprimido e ansiedade. Disforia
Euforia e disforia	Ânsia
Sentimentos de calor, rubor facial ou coceira	Piloereção (arrepio), lacrimejamento ou rinorreia
Juízo, atenção ou memória prejudicados	
Analgesia	Hiperalgisia, dores articulares e musculares
Constipação	Diarreia e cólicas gastrointestinais, náuseas ou vômitos
Constrição pupilar	Dilatação pupilar e fotofobia
Sonolência	Insônia
Depressão respiratória, arreflexia, hipotensão, taquicardia	Hiperatividade autonômica
Apneia, cianose, coma	Bocejos

**Fonte:** Traduzido de Martin (2008)

A overdose pelo uso inapropriado de fentanil pode ocorrer com a utilização de apenas 2 miligramas, além de apresentar início muito rápido e progredir para a

depressão respiratória letal em até 2 minutos, diferentemente da overdose por heroína, que geralmente demora ao menos 20 minutos após o uso para ter início (DARKE; DUFLOU, 2016).

De acordo com o relatório divulgado pelo Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crimes (UNODC) e o relatório do perfil de consumo de drogas em Sydney (Austrália), o risco de overdose ao injetar fentanil foi duas vezes maior do que ao injetar heroína e oito vezes maior do que ao injetar outros opióides prescritos. Nas décadas de 1970 e 1980, produtos contendo fentanil surgiram no mercado de drogas ilícitas e se tornaram notórios devido a overdoses acidentais. Esse surgimento se dá a fabricação clandestina do opioide que subiu para níveis sem precedentes (UNODC, 2017). Nesses casos, os pacientes costumam apresentar sintomas, como letargia, depressão e parada respiratória. Entretanto, é possível apresentar outros sintomas menos comuns como, isquemia cerebral, amnésia anterógrada aguda, boca espumando, hemorragia alveolar difusa ou, até mesmo, uma atividade semelhante à convulsão (BARASH et al., 2018).

Os antagonistas narcóticos começaram a ficar conhecidos a partir da descoberta de derivados N-alil dos narcóticos, onde pode-se observar que conseguiam reverter os efeitos manifestados pelos compostos originais. Um dos exemplos mais conhecidos é a naloxona (IMBELONI, 1989).

A utilização de naloxona, conhecido como Narcan® e considerado um antagonista puro, vem crescendo e se espalhando muito rapidamente, devido a sua atividade capaz de reverter a depressão respiratória ocasionada pelo uso de elevadas doses de substâncias anestésicas, ou seja, reverte a ação de seus agonistas como, a morfina, fentanil, alfentanil e sufentanil (FLACKE; FLACKE; WILLIAMS, 1977).

Estudos demonstram que a facilidade de difusão e eliminação cerebral da naloxona são os principais responsáveis por sua curta duração de ação e alta potência, sendo essa apresentada com rápido início, relacionada a sua rápida entrada no cérebro que pode possuir relação cérebro-plasma de até 15 vezes mais que a morfina (IMBELONI, 1989). Além disso, apresenta meia vida de eliminação mais curta que seu agonista, sendo essa cerca de 1 hora, ou seja, esse antagonista acaba finalizando sua ação antes de eliminar o efeito da droga, sendo muitas vezes necessário a aplicação de novas doses (GOZZANI, 1994).

No decorrer de sua administração, a naloxona pode manifestar efeitos colaterais de abstinência, como náusea, vômito, excitação ou variações na pressão arterial, que pode ser desencadeada pelo aumento da atividade do sistema nervoso simpático, através de aumento do ritmo cardíaco (taquicardia), arritmias cardíacas, edema pulmonar e até mesmo, fibrilação ventricular, por isso, sua aplicação deve ser feita de maneira lenta e em pequenas doses, até atingir o efeito esperado. (GOZZANI, 1994).

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mesmo com os esforços internacionais para controle de distribuição das drogas que apresentam opióides na formulação, os números de apreensões seguem aumentando. Esse mercado engloba uma vasta variedade de compostos controlados de modo internacional, além de prescrições desviadas do mercado legal ou até mesmo, sua produção em grande escala como medicamento falsificado. A problemática do controle legal desse tipo de substância se dá, em partes, devido à grande disponibilidade de seus insumos virtualmente, além de possuírem um preço de grande acesso (UNODC, 2017).

Os opióides sintéticos distribuídos no comércio ilegal configuram uma ameaça direta à saúde pública, em decorrência da falta de conhecimento de sua pureza, procedência e dose do ativo compondo o tóxico, por parte dos usuários. O aparecimento de opióides cada vez mais violento toxicologicamente, mostra que se é necessário um maior controle, regulação e monitoramento dos compostos por parte dos órgãos governamentais competentes, além de melhoramento dos aparelhos em laboratórios forenses para melhor detecção das substâncias nas vítimas que sofreram intoxicação ou nas drogas apreendidas.

#### REFERÊNCIAS

ABC DA ENFERMAGEM. **Você sabe o que é janela terapêutica de um fármaco?** Disponível em: <https://www.abcdaenfermagem.com.br/janela-terapeutica/>. Acesso em: 15 ago. 2022.

ABCMED, 2019. **Overdose - conceito, causas, características e tratamento.** Disponível em: <https://www.abc.med.br/p/psicologia-e-psiQUIATRIA/1337193/overdoseconceito-causas-caracteristicas-e-tratamento.htm>.

Acesso em: 11 mar. 2022.

ARAÚJO, J. N. F. DE et al. Uso do fentanil transdérmico para analgesia pós-operatória em cirurgia de artrodese de coluna. **Revista Dor**, v. 12, n. 2, p. 115–119, 2011.

BARASH, J. A. et al. Acute Amnestic Syndrome Associated with Fentanyl Overdose. **New England Journal of Medicine**, v. 378, n. 12, p. 1157–1158, 2018.

BENYAMIN, R.; et.al. Opioid Complications and Side Effects. **Pain Physician Journal**, v.11, p.105-120, 2008.

BICCA, C. et al. Abuso e Dependência dos Opioides e Opiáceos. **Associação Brasileira de Psiquiatria**, p. 1–30, 2012.

BOYD, R. N.; MORRISON, R.T. **Química orgânica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1998.

BRUNTON, L.L.; HILAL-DANDAN, R.; KNOLLMANN, B.C. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman e Gilman-13**. Artmed Editora, 2018.

BULCÃO, R. et al. Designer drugs: aspectos analíticos e biológicos. **Química Nova**, v. 35, p. 149-158, 2012.

CEBRID; PSICOTRÓPICAS, C. B. DE I. SOBRE D. **Livreto informativo sobre drogas psicotrópicas**. CEBRID Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas, 2010.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Drug Overdose Deaths in the U.S. Top 100,000 Annually**. Disponível: <[https://www.cdc.gov/nchs/pressroom/nchs\\_press\\_releases/2021/20211117.htm](https://www.cdc.gov/nchs/pressroom/nchs_press_releases/2021/20211117.htm)>.

CHENAF, C. et al. Prescription opioid analgesic use in France: Trends and impact on morbidity–mortality. **European Journal of Pain**, v.23, p. 124 -134, 2019.

CHUA, K.P. et al. Association between receipt of overlapping opioid and benzodiazepine prescriptions from multiple prescribers and overdose risk. **JAMA network open**, v. 4, n. 8, p. e2120353-e2120353, 2021.

CITRATO DE FENTANILA: Solução injetável isotônica estéril. Responsável técnico Florentino de Jesus Krencas. São Paulo: União Química Farmacêutica Nacional S/A, 2022. Bula de remédio. 17p. Disponível: [https://www.uniaoquimica.com.br/wpcontent/uploads/2020/08/bula\\_Unifental.pdf](https://www.uniaoquimica.com.br/wpcontent/uploads/2020/08/bula_Unifental.pdf).

CLÍNICA HOSPITALAR RECANTO. **Sintomas da crise de abstinência: tudo que precisa saber sobre esse problema**. Disponível em: <https://www.gruporecanto.com.br/blog/sintomas-da-crise-de-abstinencia/>. Acesso em: 15 ago. 2022.

COOPER, J. et al. Placental transfer of fentanyl in early human pregnancy and its

detection in fetal brain. **British Journal of Anaesthesia**, v. 82, n. 6, p. 929-931, 1999.

DARKE, S.; DUFLOU, J. The toxicology of heroin-related death: estimating survival times. **Addiction**, v. 111, n. 9, p. 1607-1613, 2016.

DEPRIEST, A.Z. et al. Metabolism and disposition of prescription opioids: a review. **Forensic Sci Rev**, v. 27, n. 2, p. 115-145, 2015.

DUARTE, D.F. Uma breve história do ópio e dos opióides. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 55, p. 135-146, 2005.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL (UEMS). **Analgésicos**. p. 1-8, [s.d.].

FENTANYL. Drugbank on line, 2005. Disponível em: <<https://go.drugbank.com/drugs/DB00813>>. Acesso em: 29 agosto de 2022.

FERNANDES, F. Bases farmacológicas da anestesia. **Brazilian Journal of Anesthesiology**, v. 44, n. 1, p. 3-12, 1994.

FERREIRA, M. Underneath the purple rain: O legado de Prince e o museu de Paisley Park – USA. **Universidade Estadual de Ponta Grossa setor de Ciências Sociais Aplicadas Departamento de Turismo**, p. 90, 2018.

FLACKE, J.W.; FLACKE, W.E.; WILLIAMS, G.D. Acute pulmonary edema following naloxone reversal of high-dose morphine anesthesia. **Anesthesiology**, 1977; 47: 376-8.

FLORES, M. P.; CASTRO, A. P. C. R. d; NASCIMENTO, J. DOS S. Analgésicos tópicos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 62, n. 2, p. 248–252, 2012.

FONTANELA, M.A.C.; TAFFAREL, M.O.; LAZARI, G. FENTANIL INTRANASAL– REVISÃO DE LITERATURA. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. 4, p. 111-111, 2017.

GOZZANI, J.L. Opióides e antagonistas. **Brazilian Journal of Anesthesiology**, v. 44, n. 1, p. 65-73, 1994.

HAN, Y. et al. The rising crisis of illicit fentanyl use, overdose, and potential therapeutic strategies. **Translational Psychiatry**, v. 9, n. 1, 2019.

IMBELONI, L. E. Naloxona: Estado Atual Artigo de Revisão. **Rev Bras Anest**, v. 39, n. 2, p. 133–141, 1989.

JUNIO, R. **Fentanyl DrugFacts**. p. 1–8, 2021. Disponível <<https://nida.nih.gov/publications/drugfacts/fentanyl>>.

JUNIOR, S. D. F. et al. Análise da mortalidade por overdose no uso de opióides e dos fatores psicossociais relacionados. **Revista Educação em Saúde**, v. 8, n. 1, p.

154–161, 2020.

KOPECKY, E. A. Opioid Pharmacology: Developmental Effects on Opioid Metabolism. **Clinical Journal of Pain**, v. 35, n. 6, p. 481–486, 2019.

KRAWCZYK, N. et al. Rising trends of prescription opioid sales in contemporary Brazil, 2009–2015. **American journal of public health**, v. 108, n. 5, p. 666-668, 2018.

KRELINGL, M.C.G.; MATTOS-PIMENTAL, C.A. Administração de analgésicos opioides em pacientes com suspeita de uso de drogas. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 70, n.2, p. 626-632, 2017.

LABORATÓRIO FORENSE DA POLÍCIA ESTADUAL DE NEW HAMPSHIRE NIST. **Deteção e Identificação de Opióides**. Disponível em: <https://www.nist.gov/programs-projects/opioid-detection-and-identification>. Acesso em: 09 ago. 2022.

LEAL, R. Uso indevido e dependência de opioides: da prevenção ao tratamento. **Revista de Medicina de família e Saúde mental**, v. 2, n. 1, 2020.

LOFTON, A. et al. Fentanyl. In: **Encyclopedia of toxicology**. 2 ed. Academic Press, 2005.

MARINHO, P.A.; SILVA, F. S. G. Opióides sintéticos. **Brazilian Journal of Health and Pharmacy**, v. 2, n. 2, p. 57-68, 2020.

MARTIN, P.R. Chapter 15: Substance-Related Disorders. In: EBERT, M.H. et al. **CURRENT Diagnosis & Treatment: Psychiatry**. McGraw Hill; p. 19-42, 2008.

NATIONAL INSTITUTE ON DRUG ABUSE. **Overdose Death Rates**. Disponível em: <https://nida.nih.gov/research-topics/trends-statistics/overdose-death-rates>. Acesso em: 18 ago. 2022.

NIDA. Fentanil DrugFacts. **Site do Instituto Nacional de Abuso de Drogas**. <https://nida.nih.gov/publications/drugfacts/fentanyl>. 1 de junho de 2021. Acesso em: 28 de julho de 2022.

ONU. **Risco de overdose por fentanil é duas vezes mais alto que por heroína**. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/75953-risco-de-overdose-por-fentanil-eduas-vezes-mais-alto-que-por-heroina-diz-onu>. Acesso em: 09 jul. 2022.

PENG, P.W.H; SANDLER, A.N. A review of the use of fentanyl analgesia in the management of acute pain in adults. **The Journal of the American Society of Anesthesiologists**, v. 90, n. 2, p. 576-599, 1999.

PRIVADO, et al. **Estudo Comparativo entre Fentanil por Vias Peridural e Venosa**. V. 54, p. 634-639, 2004.

PULCHINELLI JR, A. et al. Abuso e Dependência dos Opióides e Opiáceos.

**Associação Médica Brasileira**, 2012.

RASMUSSEN, K.; WHITE, D.A.; ACRI, J.B. **NIDA's medication development priorities in response to the Opioid Crisis: Neuropsychopharmacology**, v. 44, n. 4, p. 657, 2019.

ROCHA, A.P.C. et al. Dor: aspectos atuais da sensibilização periférica e central. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 57, p. 94-105, 2007.

SCHUELER, H.E. Emerging synthetic fentanyl analogs. **Academic Forensic Pathology**, v. 7, n. 1, p. 36-40, 2017.

SKULSKA, A.; KAŁA, M.; PARCZEWSKI, A. **Fentanyl and its analogues in clinical and forensic toxicology**, 62 (6): 581-584, 2005.

STANLEY, T. H. The fentanyl story. **Journal of Pain**, v. 15, n. 12, p. 1215–1226, 2014.

SWIFT, R. M.; LEWIS, D. C. Farmacologia da Dependência e Abuso de Drogas. **Pharmacology**, v. 84, n. 6, p. 333–339, 2009.

TABARRA, I. et al. Novel synthetic opioids—toxicological aspects and analysis. **Forensic Sciences Research**, v. 4, n. 2, p. 111-140, 2019.

UNODC. Fentanyl and its analogues - 50 years on. **Global Smart Update**, v. 17, p. 3, 2017.

UNODC. Global overview of drug demand and supply. **World drug report**, 2019.

UNODC. **Relatório: crescente fluxo de fentanil provoca acentuado aumento do número de mortes por overdose**. Disponível em: <https://www.unodc.org/pt/pobrazil/pt/frontpage/2017/03/06-relatorio-crescente-fluxo-de-fentanil-provocaacentuado-aumento-de-mortes-por-overdose.html>. Acesso em: 26 mai. 2022.

UNODC. Understanding the global opioid crisis. **Global Smart Update**, v. 21, p. 5, 2019.

WANG, S.C. et al. Opioid addiction, genetic susceptibility, and medical treatments: a review. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 17, p. 4294, 2019.

YOU, Z.B. et al. Dopamine D3R antagonist VK4-116 attenuates oxycodone self-administration and reinstatement without compromising its antinociceptive effects. **Neuropsychopharmacology**, v. 44, n. 8, p. 1415-1424, 2019.

# OS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA NA MANUTENÇÃO FISIOLÓGICA, NO DESEMPENHO ESPORTIVO E NA PREVENÇÃO DE DIABETES MELLITUS

Mariana Veiga<sup>1</sup>  
Alberto Yoichi Sakaguchi<sup>2</sup>

## RESUMO

A creatina (Cr) é considerada uma proteína que está presente, predominantemente, nos músculos esqueléticos, que desempenha o papel fundamental no contexto fisiológico, como manutenção durante a contração muscular. Além disso, no aspecto bioquímico, ela desempenha um papel energético muito importante liberando uma molécula de ATP, a partir da reversão de fosfocreatina (PCr) em Cr. Consequentemente, a sua suplementação manifestou-se de forma positiva entre os atletas para melhorar seu rendimento e recuperação muscular. Apesar disso, este estudo analisa a suplementação em vários aspectos, como na função cerebral, na saúde do coração e no controle da glicose, com o objetivo de relatar seus possíveis benefícios e indicá-la, principalmente para atletas e pacientes com diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Com isso, o presente artigo traz uma revisão bibliográfica, de caráter descritivo, fundamentado nas bases de dados SciELO, PubMed, Google acadêmico e MDPI nos últimos 15 anos. A pesquisa analisa o metabolismo da Cr, sua composição, função, seus benefícios no aspecto da atividade física, sua dose recomendada, seus efeitos na função cerebral, no coração e como um possível método preventivo e controlador para o DM2. Através disso, é evidente que a sua suplementação apresentou inúmeros benefícios conforme a dose segura, como manutenção bioquímica da glicose subsequente de contração muscular e cognição. Portanto, conclui-se que a suplementação de Cr é promissora, visto que pode melhorar o desempenho cognitivo, aumentar ganhos de força muscular, potência e desempenho na atividade física e diminuir a resistência à insulina melhorando o controle da glicose conforme a orientação profissional.

**Palavras-chave:** creatina; suplementação; diabetes mellitus tipo 2; atividade física; cognição.

## ABSTRACT

Creatine is considered a protein that is predominantly present in skeletal muscles, which plays a fundamental role in the physiological context, as maintenance during muscle contraction. Furthermore, in the biochemical aspect, it plays a very important energetic role by releasing an ATP molecule, from the reversion of phosphocreatine

<sup>1</sup> Graduando do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil), Londrina/PR, Brasil. E-mail: mariana.veiga@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Orientador: Professor do curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil), Londrina/PR, Brasil. E-mail: alberto.sakaguchi@unifil.br

into creatine. Consequently, its supplementation has been shown to be positive among athletes in improving their performance and muscle recovery. Despite this, this study analyzes supplementation in several aspects, such as brain function, heart health and glucose control, with the aim of reporting its possible benefits and recommending it, especially for athletes and patients with type 2 diabetes mellitus. (DM2). Therefore, this article presents a bibliographical review, of a descriptive nature, based on the SciELO, PubMed, Google Scholar and MDPI databases over the last 15 years. The research analyzes the metabolism of creatine, its composition, function, its benefits in terms of physical activity, its recommended dose, its effects on brain function, the heart and as a possible preventive and controlling method for DM2. Therefore, it is evident that its supplementation presented numerous benefits depending on the safe dose, such as biochemical maintenance of glucose subsequent to muscle contraction and cognition. Therefore, it is concluded that Cr supplementation is promising, as it can improve cognitive performance, increase gains in muscle strength, power and performance in physical activity and decrease insulin resistance, improving glucose control according to professional guidance.

**Keywords:** creatine; supplementation; type 2 diabetes mellitus; workout; cognition.

## 1 INTRODUÇÃO

A creatina (Cr) - ácido metil guanidina acético - é um composto proteico de aminoácidos existente em altas concentrações no músculo esquelético, que corresponde, aproximadamente, dois terços da creatina intramuscular sendo fosfocreatina (PCr) e o restante pertence à Cr livre, e, entre 1-2% dela é degradada sem creatinina, subproduto metabólico, e excretada pela urina. Ainda, o corpo necessita repor de 1 a 3g de Cr por dia para manter as reservas normais, além da síntese endógena e da dieta, na qual é obtida, principalmente, de carne vermelha e mariscos, e estabelecida como forma de suplementação, sendo a Cr monohidratada (CrM) a mais comum (MAICAS-PÉREZ *et al.*, 2023).

A suplementação com Cr é muito popular entre atletas e praticantes de exercício para melhorar a massa muscular, o desempenho e a recuperação (ANTONIO *et al.*, 2021). Conforme o aumento das concentrações intramusculares de creatina, ela pode ajudar a explicar as melhorias observadas no desempenho de exercícios de alta intensidade, levando às maiores adaptações ao treinamento (KREIDER *et al.*, 2017). Além disso, a Cr influencia no fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1), fatores reguladores miogênicos, células satélites,

hidratação celular, cinética de cálcio e proteínas, conteúdo de glicogênio, inflamação e estresse oxidativo (BURKE *et al.*, 2023).

No contexto fisiológico, a suplementação de Cr pode melhorar a recuperação pós-exercício, prevenção de lesões, termorregulação, reabilitação e concussão e/ou neuroproteção da medula espinhal. Ainda, CrM continua sendo um dos poucos suplementos nutricionais cuja pesquisas demonstram consistentemente ter benefícios ergogênicos, sendo não apenas segura, mas tem sido relatada como uma série de benefícios terapêuticos em populações saudáveis e doentes, de crianças a idosos (KREIDER *et al.*, 2017).

De acordo com o sistema de classificação de suplementos dietéticos do Instituto de Esporte Australiano (AIS), a Cr é um suplemento de classe A baseado na evidência de seus benefícios para o desempenho esportivo. Ademais, ela possivelmente se tornou um dos suplementos mais estudados nos últimos 25 anos (MAICAS-PÉREZ *et al.*, 2023). E tem sido a CrM a forma de creatina mais estudada e, clinicamente, eficaz para o uso em termos de absorção muscular e capacidade de aumentar a capacidade de exercício de alta intensidade (KREIDER *et al.*, 2017).

Atualmente, a Cr vem sendo suplementada por muitos indivíduos, atletas ou não, ao longo dos anos, os estudos para a suplementação por praticantes de atividade física foram se aprimorando e sendo bem desenvolvidos, com muitos resultados benéficos. Além disso, os estudos estão sendo aprimorados para a suplementação de indivíduos não atletas para tratar e prevenir doenças como Diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Devido à sua demanda na frequência do uso desse suplemento, esse estudo bibliográfico foi criado para relatar seus benefícios na manutenção fisiológica e no tratamento e prevenção de doenças.

## 2 METODOLOGIA

Para realização deste trabalho foram realizadas revisões bibliográficas, para descrever de forma qualitativa e explicativa os métodos, dados e conceitos sobre a creatina, sua suplementação e seus benefícios, na saúde do coração, cérebro e no tratamento e prevenção do Diabetes mellitus tipo 2, obtidos através de artigos científicos nas plataformas online como SciELO, PubMed, Google acadêmico e MDPI. Foram consultados 24 artigos, selecionados pelos critérios de inclusão: artigos em

português e inglês, entre os anos de 2008 a 2023, que tratassem de uma abordagem do uso da Cr para o tratamento de disfunções.

### 3 METABOLISMO DA CREATINA (Cr)

A Cr é uma proteína composta de aminoácidos que é sintetizada principalmente no fígado, rins, pâncreas, cérebro e testículos (BONILLA *et al.*, 2021). A síntese dela de forma endógena ocorre por meio de três aminoácidos, glicina, arginina e metionina, iniciada pela transferência do grupo amino da arginina para a glicina para formar guanidinoacetato e a ornitina. A Cr, então, é formada pela adição irreversível de um grupo metil da S-adenosilmetionina, com a metiltransferase sendo requerida pelo processo de transmetilação (ARAUJO; RIBEIRO; CARVALHO, 2009).

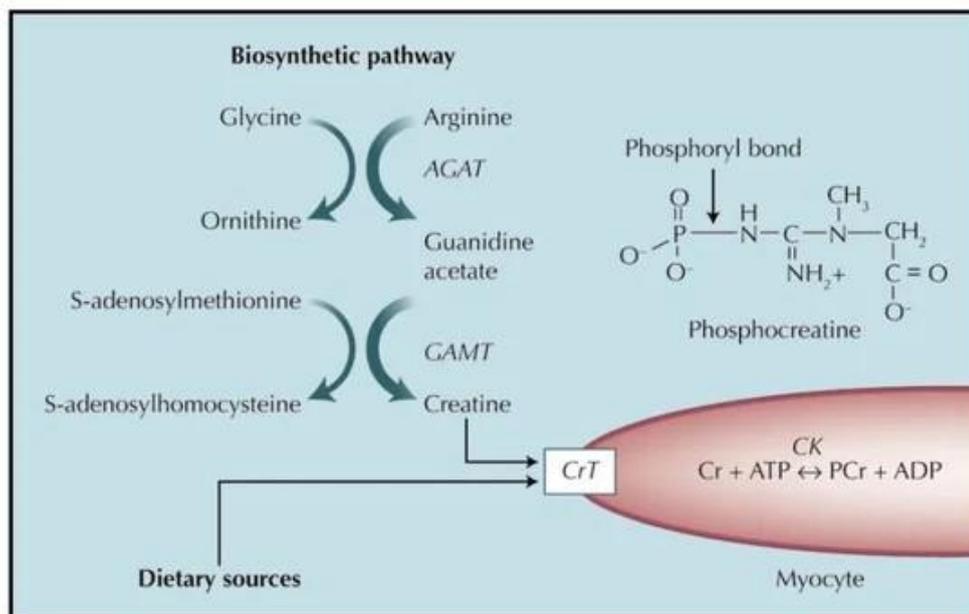
A Cr desempenha um papel importante no metabolismo energético celular quando, a fosfocreatina (PCr) é revertida em Cr, sua ligação fosfato se quebra, fornecendo energia suficiente para permitir a fosforilação de uma molécula de adenosina difosfato (ADP) em adenosina trifosfato (ATP). Desta maneira, a PCr atua como reserva de energia para sintetizar ATP rapidamente, sem necessidade de oxigênio (BALESTRINO, 2021).

Ainda nesse contexto, a Cr também serve como um “transportador de energia”, pois, sua taxa de difusão intracelular mais rápida em comparação com o ATP, ela é capaz de transportar energia de forma mais eficiente dos locais onde é sintetizada para locais onde é utilizada ao longo de um gradiente de concentração (KIOUS; KONDO; RENSHAW, 2019). Conseqüentemente, o ATP é uma via de sistema energético de característica rápida, essencial para o sistema de energia celular dos músculos esqueléticos, cérebro e do coração, pois são órgãos que demandam desse sistema em determinadas situações (CARVALHO, 2023).

Cerca de metade da necessidade diária de Cr é obtida da síntese endógena, enquanto que, conforme mencionado anteriormente, o restante é obtido da dieta, principalmente, carne vermelha e suplementos dietéticos (MARSHALL *et al.*, 2022). Uma vez que a Cr entra na circulação, ela é transportada para vários tecidos, sendo a maioria captada e armazenada no músculo esquelético, e o restante encontrada em outros tecidos como miócitos cardíacos, retina, neurônios e testículos (LEWGOOD *et al.*, 2021). No músculo, cerca de dois terços é convertido em PCr e cerca de um terço

permanece como Cr livre. Após contrações musculares repetidas, a ADP é rapidamente fosforilada pela PCr para ressintetizar o ATP, a fim de manter o status energético (LEWGOOD *et al.*, 2021).

**Figura 1** - Resumo do metabolismo da creatina.



Fonte: Balestrino (2021).

No estudo de Bonilla (2021) e colaboradores, eles concluíram que Cr e PCr desempenham um papel essencial no funcionamento dos tecidos com altas demandas energéticas, como, por exemplo, músculos, cérebro e coração. Ainda, as alterações de concentrações, também, produzem alterações funcionais, seguida de vários tipos de doenças, como por exemplo, câncer ou patologias associadas à síndrome de deficiência de Cr.

Nesse sentido, o sistema CK/PCr pode ser visto como um biossensor dinâmico da transdução de energia químico-mecânica celular, o que pode explicar vários benefícios positivos da suplementação de CrM e da fisiopatologia celular da síndrome de deficiência de Cr (BONILLA, 2021).

O aumento da concentração total de Cr no músculo limita a depleção dos estoques de PCr durante o exercício muscular intenso, limitando também o declínio na síntese de ATP pelo aumento da refosforilação do ADP (ARAUJO; RIBEIRO; CARVALHO, 2009).

A suplementação de Cr tem efeitos favoráveis nos músculos e ossos,

principalmente quando combinada com estímulos como exercício físico, e há evidências que ela tem a capacidade de fornecer efeitos antiinflamatórios e anti-catabólicos, trazendo benefícios para atletas e/ou indivíduos que praticam exercícios para populações com estado de doença caracterizado por inflamação como diabetes mellitus tipo II, indivíduos propensos à perda muscular e óssea (CORDINGLEY; CORNISH; CANDOW, 2022).

A Sociedade Internacional de Nutrição Esportiva (ISSN) forneceu uma revisão literária baseada em evidências de alto nível, que avaliam os efeitos da suplementação de Cr no desempenho, recuperação, prevenção de lesões, tolerância ao exercício e reabilitação, neuroproteção, envelhecimento, populações clínicas e de estado de doenças e gravidez, desde então aumentou o interesse de pesquisadores em relação à suplementação de Cr para diversas situações (CARVALHO, 2023). Em alguns estudos foi demonstrado que a suplementação com Cr altera a composição corporal e pode, potencialmente, melhorar o controle da glicose e diminuir a resistência à insulina (BALESTRINO, 2021).

A excreção de creatina ocorre através de sua conversão irreversível e não enzimática em creatinina, que é então eliminada pelos rins (SOLIS; ARTIOLI; GUALANO, 2021). Ademais, o consumo da Cr por alimentos, muitas vezes, não é suficiente para melhorar o desempenho físico, por isso a suplementação é necessária (CARVALHO, 2023).

### **3.1 Creatina e Atividade Física**

A Cr é um dos suplementos auxiliares ergogênicos nutricionais mais populares para atletas (KREIDER *et al*, 2017). Se tornou popular entre os atletas e praticantes de exercícios para melhorar o desempenho físico, pois, aproximadamente, 90% da Cr e PCr está presente no músculo esquelético. Ao aumentar as concentrações intracelulares e intramusculares de PCr, favorece o metabolismo do fosfagênio, o qual é muito importante para melhorar a força muscular e potência muscular do sistema músculo esquelético (SOUSA *et al*, 2019; CARVALHO, 2023).

Além disso, a Cr é considerada um dos poucos suplementos dietéticos ergogênicos eficazes para aumentar as adaptações do treinamento de resistência

(TR), e com capacidade de aumentar a Cr total dos músculos - Cr livre e PCr, permitindo uma maior capacidade de ressintetizar de maneira rápida o ATP e, conseqüentemente, melhorar o exercício de alta intensidade (BURKE *et al.*, 2023). Também é capaz de levar a mais rápida reposição de PCr e ATP durante os intervalos dos exercícios e o aumento na síntese proteica muscular, favorecendo a hipertrofia e aumento da força (ARAÚJO; RIBEIRO; CARVALHO, 2009).

Estudos indicam que a suplementação em conjunto com o TR aumenta os ganhos de força muscular, potência e desempenho em uma variedade de testes físicos relacionados ao metabolismo anaeróbico (BURKE *et al.*, 2023). No estudo de Maícas-Pérez e colaboradores (2023), concluíram que o grupo de pesquisas que consumiram 0,3 g/kg por dia de CrM durante 7 dias melhorou seu desempenho realizando um número maior de repetições do que o grupo placebo durante a execução das séries de supino na musculação.

O exercício físico pode aumentar o acúmulo de Cr total intracelular com a suplementação de Cr, embora esteja ligada a dose diária utilizada. Ademais, doses elevadas de 20 g/dia de Cr, chamada “fase de carga” em apenas 5 dias, são suficientes para saturar os estoques de Cr muscular. Se a suplementação ocorrer de forma mais gradual, como em doses de 3 a 5 g/dia, leva a aumento semelhante, porém em período mais longo, de aproximadamente 28 dias (RIBEIRO *et al.*, 2021).

.A suplementação de Cr pode melhorar a recuperação após exercício, prevenção de lesões, termorregulação, reabilitação e concussão e/ou neuroproteção da medula espinhal (KREIDER *et al.*, 2017). Ainda no contexto benéfico, um maior fluxo sanguíneo para o músculo poderia levar a uma maior distribuição de Cr e, assim, aumentar a sua captação e retenção, embora isto restrinja principalmente, aos músculos exercitados (RIBEIRO *et al.*, 2021).

O estudo de Ribeiro e colaboradores (2021) foi revisado e determinado que a Cr é absorvida pelo trato gastrointestinal antes de entrar na corrente sanguínea para ser distribuída aos tecidos do corpo e a sua absorção é próxima de 100%. Quando são consumidos 2g de Cr em solução aquosa, atinge o pico de concentração plasmática em aproximadamente 1h, e, quando a dose administrada foi menor do que 10g a concentração plasmática máxima ocorreu em menos de 2h.

Essa informação é crucial pois os indivíduos devem procurar em coincidir os

níveis máximos de Cr circulante com hiperemia. Assim, a Cr começaria a acumular ao longo da sessão de treinamento, e o pico de concentração de Cr no sangue ainda ocorreria durante o exercício, sugerindo que a suplementação pré-exercício pode ser mais eficiente no aumento do conteúdo muscular de Cr do que a suplementação pós-exercício (RIBEIRO *et al.*, 2021).

Há descobertas recentes que confirmam efeitos terapêuticos da suplementação e demonstram melhorias na saúde dos idosos, aumentando força muscular e resistência à fadiga, melhor desempenho nas atividades diárias e prevenção da perda óssea (SOUSA *et al.*, 2019). De acordo com a Sociedade Brasileira de Nutrição Enteral e Parenteral (BRASPEN), foi divulgado que a suplementação de Cr produz uma variedade de efeitos benéficos em populações mais velhas, e que a suplementação combinada com exercício resistido torna-se uma excelente estratégia para melhorar a capacidade funcional de indivíduos com mais idade (CARVALHO, 2023).

Embora o exercício pareça aumentar o acúmulo nos músculos com a suplementação de Cr, as evidências em que apoiam a importância do momento da suplementação dela próximo ao exercício estão atualmente limitadas. Estudos sobre aumento na captação de Cr no músculo ou um aumento na retenção de Cr ainda não são claros, devem ser confirmados (RIBEIRO *et al.*, 2021).

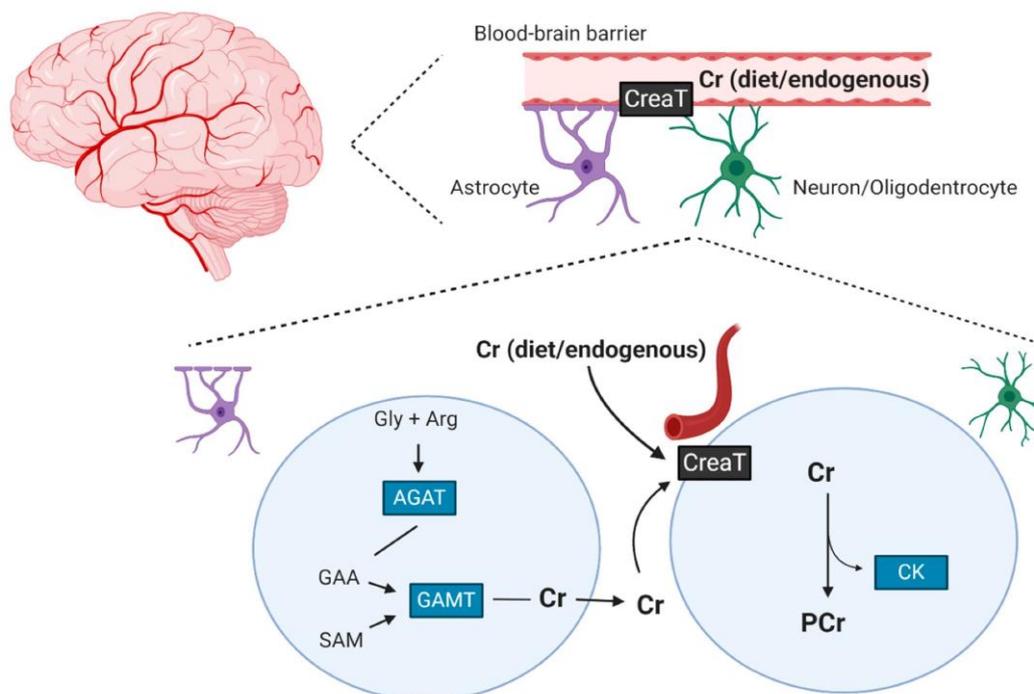
Conforme relatado acima, a suplementação de Cr apresenta benefício na manutenção fisiológica durante a atividade física. Adicionalmente, o efeito dela pode desencadear outra vantagem interessante mas pouco evidenciada em comparação com outros efeitos fisiológicos e bioquímicos, que é a relação dela com aspecto neurológico (CANDOW *et al.*, 2023).

### **3.2 Efeito da Cr na Função Cerebral**

O cérebro é um órgão complexo, altamente energético, consumindo aproximadamente 20% da energia total em repouso, apesar de representar apenas cerca de 2% da massa corporal total. Os neurônios requerem um suprimento constante de ATP para vários processos celulares, incluindo a manutenção de gradientes iônicos, exocitose de neurotransmissores e funcionamento sináptico

(FORBES *et al.*, 2022). Além disso, astrócitos e oligodendrócitos também, podem produzir endogenamente Cr, que é absorvida pelos neurônios que expressam o transportador de Cr, transportadores que também são utilizados na absorção de Cr dietética (ROSCHEL *et al.*, 2021). A figura 2 ilustra a síntese endógena de Cr no cérebro e seu transporte através da barreira hematoencefálica.

**Figura 2** - Representação da síntese endógena de creatina no cérebro e seu transporte através da barreira hematoencefálica.



Fonte: Roschel *et al.* (2021).

Mesmo sendo capaz de sintetizar Cr, o cérebro pode ser limitado devido aos distúrbios hereditários nas enzimas catalisadoras de Cr, podendo afetar as concentrações de Cr no cérebro (ROSCHEL *et al.*, 2021).

As investigações sobre o suplemento de Cr como neuroprotetora vêm ganhando força sendo justificada pela capacidade dela aumentar o conteúdo de Cr cerebral, aumentando, assim, o fornecimento de energia rápida aos neurônios. A consequência disso é a melhora do desempenho cognitivo dos seres humanos, servindo também como coadjuvador no tratamento de doenças neurológicas (CARVALHO, 2023).

O processamento cognitivo pode ser afetado pelo metabolismo da Cr, pois pode

facilitar a homeostase do ATP durante períodos de renovação rápida ou alternada do ATP cerebral, como durante tarefas cognitivas complexas, hipóxia, privação de sono e algumas condições como a síndrome da deficiência da Cr. Pode ser benéfica também para lesões cerebrais traumáticas leves, que também estão associadas às alterações nas necessidades energéticas do cérebro (ROSCHEL *et al.*, 2021).

Há evidências que demonstram claramente a importância da Cr na função cognitiva que vem de indivíduos com síndromes de deficiência de Cr - esgotamento dos estoques de Cr no cérebro -, caracterizada por distúrbios mentais e de desenvolvimento, como atrasos de aprendizagem, convulsões e distúrbios do espectro do autismo, sintomas que são revertidos em parte pela suplementação de Cr. No geral, há evidências de que a suplementação de Cr pode aumentar as medidas da função cognitiva, esses efeitos cognitivos parecem ser mais robustos quando a bioenergética cerebral é desafiada, como a privação de sono (FORBES *et al.*, 2022).

Alguns transtornos de saúde mental também foram caracterizados por apresentarem anormalidades na bioenergética cerebral, como a depressão. No estudo de Faulkner e colaboradores (2021) demonstraram através da espectroscopia de ressonância magnética que, níveis mais baixos de Cr no córtex pré-frontal estão associados ao mau humor e aumento da depressão, em alguns estágios da doença (FORBES *et al.*, 2022).

A depressão apresenta alguns tratamentos farmacológicos não eficazes para uma proporção significativa de pacientes, existindo então uma imensa necessidade de identificar novas estratégias antidepressivas, principalmente, estratégias que visem vias fisiológicas que sejam distintas daquelas abordadas pelos tratamentos convencionais. Assim como levantado no estudo de Kious, Kondo e Renshaw (2019), a análise indicou que a Cr pode ter um efeito antidepressivo importante.

No estudo de Roschel e colaboradores (2021), conclui-se que há um potencial na suplementação de Cr para melhoramento do processamento cognitivo, especialmente, em condições caracterizadas por déficits cerebrais de Cr induzidos por estresse agudos ou condições patológicas crônicas. No entanto, o estudo concluiu que ainda faltam estudos para determinar o protocolo ideal capaz de aumentar os níveis de Cr no cérebro, e de identificar qual suplementação pode ser mais eficaz na melhoria da função cognitiva, pois, Cr em um cérebro saudável e descansado,

aparentemente, apresenta um efeito menor.

A investigação de Forbes e colaboradores (2022) sugere um possível papel da Cr no tratamento de diferentes formas de depressão, no entanto, são necessários mais ensaios clínicos em maior escala para compreender melhor a ingestão habitual de Cr na dieta e na resposta a tal intervenção. Foi observado também, que a suplementação de Cr pode aumentar o conteúdo de Cr no cérebro, explicando os benefícios preliminares da suplementação de Cr nos índices de cognição, depressão, concussão e traumatismo cranioencefálico (TCE).

Apesar disso, faltam pesquisas sobre a eficácia da Cr no tratamento de sintomas de doenças neurodegenerativas, ansiedade ou transtorno de estresse pós-traumático e, também, para definir a melhor estratégia clínica de dosagem da suplementação a longo prazo na função cerebral e na saúde.

### **3.3 O Papel da Cr na Saúde do Coração**

A Cr é o elemento chave na contração do coração e no metabolismo energético, e sua suplementação aumenta seu conteúdo mesmo no coração saudável. Adicionalmente, o aumento do conteúdo de Cr em corações normais é possível com a suplementação de Cr e, estudos sugerem melhora na função cardíaca, mesmo em preparações cardíacas normais (BALESTRINO, 2021).

É possível aumentar a Cr após sua suplementação no coração normal, embora deva-se administrar altas doses por pelo menos 4 semanas, possivelmente, porque o coração normal já contém grande quantidade de Cr (BALESTRINO, 2021).

A capacidade bioquímica da suplementação de Cr em aumentar o sistema de PCr contribui para um rápido sistema de tamponamento em momentos de maior gasto energético. Essa ação faz da Cr um poderoso agente antioxidante, atuando no combate ao estresse oxidativo, na depleção de energia e no dano mitocondrial que são características de doenças do sistema cardiovascular doenças ligadas aos processos inflamatórios (CARVALHO, 2023).

Acredita-se que a diminuição do conteúdo de Cr na insuficiência cardíaca se deva à regulação negativa do transportador de Cr, embora os níveis de ATP estejam estáveis ou moderadamente diminuídos. Ainda, os níveis de PCr geralmente diminui

em uma extensão muito maior, com uma redução correspondente na relação PCr/ATP, indicando uma discrepância entre a síntese de ATP na mitocôndria e as necessidades de ATP no citoplasma. Por isso, é provável que a PCr seja usada para ressintetizar, rapidamente, o ATP, retardando, assim, sua perda na insuficiência cardíaca (BALESTRINO, 2021).

A suplementação de Cr em pacientes com insuficiência cardíaca visa normalizar a diminuição do conteúdo de Cr, embora ela possa ter efeitos positivos na função cardíaca e o seu efeito mais robusto reside na melhoria da resistência e da força do músculo esquelético, um efeito que é de qualquer forma, teoricamente, capaz de melhorar a qualidade de vida desses pacientes em sua maioria incuráveis (BALESTRINO, 2021).

Diferentemente da suplementação de Cr, o tratamento com PCr demonstrou reduzir a mortalidade em curto prazo, melhorar a fração de ejeção do ventrículo esquerdo e diminuir o risco de arritmias maiores. No entanto, mais investigações são necessárias para tratamento a longo prazo (DEL FRANCO *et al.*, 2021).

No entanto, a suplementação com Cr deve ser utilizada para problemas cardíacos, na tentativa de reverter os efeitos nocivos causados. Porém, em corações saudáveis não há demonstração de que a suplementação de Cr possa melhorar a função cardíaca, mas a suplementação é segura, com a possível exceção de indivíduos com insuficiência renal. Para os pacientes com insuficiência cardíaca em que o conteúdo de Cr dos miócitos está diminuído, a suplementação deve ser testada a fim de aliviar os sintomas de fraqueza e fadiga (BALESTRINO, 2021).

Apesar de todo o contexto demonstrando o papel da Cr no quesito cardíaco e suas limitações, mais pesquisas devem ser realizadas correlacionando, o conteúdo de Cr e PCr do miocárdio com os benefícios clínicos obtidos com a suplementação (BALESTRINO, 2021). Todavia, é notório que a suplementação dela serve como mantenedor de ATP, isto é, pode apresentar o papel de controlar o metabolismo de carboidratos, como a glicose.

### 3.4 A Cr para o Controle Glicêmico e Prevenção do Diabetes *Mellitus* do tipo 2 (DM2)

A insulina é secretada por células beta ( $\beta$ ) do pâncreas em resposta à um substrato energético, hormônios e mudanças nas demandas energéticas para manter os níveis normais de glicose no sangue. Além disso, a insulina se liga ao receptor do tipo tirosina quinase e ativa a fosforilação de uma família de substratos de receptor de insulina. Resultante disso, as proteínas fosforiladas por receptores de insulina ligam-se e ativam moléculas de sinalização intracelular, que promove a translocação do transportador de glicose tipo 4 (GLUT-4) para membrana plasmática (SOLIS; ARTIOLI; GUALANO, 2021).

Com base nisso, o DM2 é causado por uma resistência à insulina, geralmente, associada a translocação do GLUT-4 abaixo do ideal. Geralmente está associada aos fatores genéticos e ambientais, como sedentarismo e obesidade, podendo levar à falha da função das células  $\beta$  seguida de causar um declínio progressivo na secreção de insulina (SOLIS; ARTIOLI; GUALANO, 2021). É uma das doenças mais prevalentes no mundo, sendo a sétima principal causa de morte registrada no ano de 2016 e, quase metade das mortes são atribuídas à glicemia elevada, que ocorre antes dos 70 anos (SOUSA *et al.*, 2019).

Por outro lado, o envelhecimento da população resultou num aumento da ocorrência de obesidade, subsequente de aumentar o risco de diabetes e suas comorbidades, aumentando o estresse oxidativo do DNA, lipídios e proteínas, a inflamação e a resistência à insulina (SOUSA *et al.*, 2019).

Há evidências recentes sugerindo que indivíduos com DM2 apresentam metabolismo alterado da Cr. O estudo de Post e colaboradores (2020) concluiu que a maior concentração extracelular de Cr e menor conteúdo intracelular de PCr e Cr podem estar relacionados à um estado de energia intracelular prejudicado que sugere disfunção mitocondrial, um mecanismo envolvido na fisiopatologia do DM2.

O DM2 pode ser tratado por tratamento farmacológico e não farmacológico, como a redução de peso, intervenção dietética e atividade física. O exercício físico de forma regular induz alterações metabólicas e hemodinâmicas benéficas, resultando em melhorias na captação muscular independente de insulina e na sensibilidade à

insulina, bem como o aumento de glicogênio (SOLIS; ARTIOLI; GUALANO, 2021).

Atualmente, a suplementação de Cr surgiu como uma estratégia capaz de potencializar as adaptações fisiológicas e metabólicas ao exercício, o que pode conferir a proteção em condições de resistência à insulina e, potencialmente, capaz de melhorar o controle da glicose (SOLIS; ARTIOLI; GUALANO, 2021).

O músculo esquelético é o local com maior utilização de glicose e ácidos graxos e sua regeneração é parte integrante da fisiologia muscular. Uma falha nesse processo diminui a função contrátil, resultando em atrofia muscular, uma das complicações do DM2 e obesidade (SOUSA *et al.*, 2019). Indivíduos com DM2 geralmente apresentam baixa quantidade muscular e aumento da adiposidade. A Cr combinada com exercício pode ser uma estratégia viável para melhorar a composição corporal. (LEWGOOD *et al.*, 2021). Resultante disso, o exercício físico, então, pode diminuir esses efeitos prejudiciais do envelhecimento e modular os mecanismos moleculares ativados pelo DM2.

A Cr é capaz de promover a retenção de água muscular, levando às alterações na osmolaridade celular, podendo ativar cascatas de sinalização sensíveis ao volume celular com capacidade de induzir mudanças adaptativas na osmolaridade intra e extracelular, sendo um estímulo potente para a síntese de glicogênio no músculo e no fígado (SOLIS; ARTIOLI; GUALANO, 2021).

A suplementação por 10 dias em adultos saudáveis foi capaz de aumentar os estoques de glicogênio, subsequente do aumento da osmolaridade intracelular que foi associado ao aumento de IGF-1 circulante, promovendo efeitos semelhantes ao da insulina e diminuindo os hormônios contra reguladores, que estão envolvidos no catabolismo do glicogênio (SOLIS; ARTIOLI; GUALANO, 2021).

A Cr pode potencialmente melhorar o controle da glicose e diminuir a resistência à insulina (LEWGOOD *et al.*, 2021). No estudo de Gualano e colaboradores (2011), avaliaram os efeitos da suplementação de Cr no controle glicêmico de pacientes com DM2. Neste estudo os pacientes receberam 5g/dia de Cr, ou placebo, durante 12 semanas durante um programa de treinamento físico. A análise observou que os níveis de hemoglobina glicada e glicose foram, significativamente, mais baixos no grupo Cr do que no grupo placebo, assim, a suplementação dela pode resultar no ganho de massa corporal magra, melhorando a função muscular dos idosos, além de

contribuir para o controle glicêmico, útil como terapia em pacientes com DM2.

Além disso, a suplementação de Cr pode melhorar os aspectos funcionais do músculo em idosos, principalmente, aqueles com fragilidade, desnutrição e pacientes sedentários com doenças metabólicas crônicas como DM2 (SOUSA *et al.*, 2019). Há evidências que a Cr teve um efeito redutor de glicose semelhante ao da metformina (LEWGOOD *et al.*, 2021).

A suplementação da Cr tem potencial para promover alterações no metabolismo da glicose que podem favorecer um perfil metabólico mais saudável, quando o treino físico é fornecido juntamente com este suplemento, uma vez que a Cr parece melhorar as adaptações ao treino. Porém, os estudos de Freire e colaboradores (2008) e Vaisy e colaboradores (2011) não demonstraram qualquer benefício na suplementação de Cr, isoladamente ou em combinação com treinamento físico, na homeostase da glicose e na sensibilidade muscular à insulina em ratos com resistência à insulina (SOLIS; ARTIOLI; GUALANO, 2021).

Há conclusões em que a suplementação de Cr e os exercícios têm potencial de fornecer efeitos benéficos para indivíduos mais velhos com DM2 (LEWGOOD *et al.*, 2021). No entanto, mais pesquisas são necessárias para avaliar a dose terapêutica diária do suplemento para diminuir a perda de massa muscular com o envelhecimento, particularmente para a prevenção ou controle de DM 2 e suas comorbidades (DE SOUSA *et al.*, 2019).

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Através dos dados levantados, a suplementação de Cr pode aumentar os ganhos de força muscular, potência e desempenho na atividade física, além de melhorar a recuperação após o exercício e prevenir lesões.

Pode ser útil no aumento do fornecimento de energia aos neurônios e melhorando também o desempenho cognitivo, principalmente em indivíduos com a síndrome de deficiência de Cr, apresentando efeitos superiores quando a bioenergética cerebral é desafiada. Ainda são necessários estudos que determinem o protocolo ideal capaz de aumentar o nível de Cr cerebral, e identificação de novas condições nas quais a suplementação pode ser mais eficaz na melhoria da função

cognitiva, uma vez que em cérebro saudável e descansado demonstrou ter um efeito menor.

Na saúde do coração a suplementação induz um aumento do sistema PCr contribuindo para um rápido sistema de tamponamento em momentos de maior gasto energético, sendo utilizada também para ressintetizar ATP, retardando sua perda na insuficiência cardíaca, visando normalizar a diminuição do conteúdo de Cr, aumentando a qualidade de vida dos pacientes com essa condição. Há a reversão dos efeitos nocivos dos problemas cardíacos. Em corações saudáveis não há demonstrações que possam melhorar a função cardíaca, mas a suplementação ainda sim é segura. Novos testes com a suplementação devem ser feitos para avaliar os sintomas de fraqueza e fadiga em pacientes com insuficiência cardíaca, onde o conteúdo de Cr está diminuído. É fundamental também que tenham pesquisas correlacionando, o conteúdo de Cr e PCr do miocárdio com os benefícios clínicos obtidos com a suplementação.

A Cr se mostrou um estímulo potente para a síntese de glicogênio, melhorando também o controle da glicose e diminuindo a resistência à insulina, favorecendo um perfil metabólico mais saudável, associadamente ao exercício físico, sendo útil como uma terapia para paciente com DM2. Pesquisas devem ser realizadas para avaliar a dose terapêutica diária do suplemento para diminuir a perda de massa muscular com o envelhecimento, particularmente para a prevenção ou controle de DM2 e suas comorbidades.

A Cr portando é considerada um suplemento promissor, que possui grande segurança e pouco ou nenhum efeito colateral, porém ainda necessita mais pesquisas que comprovem seus efeitos benéficos em relação a tratamento e prevenção de algumas patologias.

## REFERÊNCIAS

ANTONIO, J. et al. Common Questions and Misconceptions about Creatine supplementation: What Does the Scientific Evidence Really show? **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 18, n. 1, 8 fev. 2021.

ARAUJO E. R. ; RIBEIRO P. S.; CARVALHO S. F. D.Creatina: Metabolismo e efeitos de sua suplementação sobre o treinamento de força e composição corporal. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, São Paulo, v.3, n.13, p. 63-69 janeiro-fevereiro,

2009.

BALESTRINO, M. Role of Creatine in the Heart: Health and Disease. **Nutrients**, v. 13, n. 4, p. 1215, 7 abr. 2021.

BONILLA, D. A. et al. Metabolic Basis of Creatine in Health and Disease: A Bioinformatics-Assisted Review. **Nutrients**, v. 13, n. 4, p. 1238, 9 abr. 2021.

BURKE, R. et al. The Effects of Creatine Supplementation Combined with Resistance Training on Regional Measures of Muscle Hypertrophy: A Systematic Review with Meta-Analysis. **Nutrients**, v. 15, n. 9, p. 2116, 1 jan. 2023.

CANDOW, D. G. et al. “Heads Up” for Creatine Supplementation and its Potential Applications for Brain Health and Function. **Sports Medicine**, 27 jun. 2023.

CARVALHO, A.L.S. Suplementação de creatina: Dosagem para o desempenho e potência muscular, capacidade funcional, neurológica e nos processos inflamatórios. **Revista da Associação Brasileira de Nutrição**. Canoas, 2023.

CORDINGLEY, D. M.; CORNISH, S. M.; CANDOW, D. G. Anti-Inflammatory and Anti-Catabolic Effects of Creatine Supplementation: A Brief Review. **Nutrients**, v. 14, n. 3, p. 544, 27 jan. 2022.

DEL FRANCO, A. et al. Creatine deficiency and heart failure. **Heart Failure Reviews**, v. 27, n. 5, p. 1605–1616, 2022.

DE SOUSA, M. V. et al. Dietary protein and exercise for preservation of lean mass and perspectives on type 2 diabetes prevention. **Experimental Biology and Medicine**, v. 244, n. 12, p. 992–1004, 15 jul. 2019.

FAULKNER, P. et al. Relationship between depression, prefrontal creatine and grey matter volume. **Journal of Psychopharmacology**, v. 35, n. 12, p. 1464–1472, 26 out. 2021.

FORBES, S. C. et al. Effects of Creatine Supplementation on Brain Function and Health. **Nutrients**, v. 14, n. 5, p. 921, 22 fev. 2022.

FREIRE, Thiago Onofre et al. Effects of creatine supplementation on glucose uptake in rats submitted to exercise training. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 14, p. 431-435, 2008.

GUALANO, B. et al. In sickness and in health: the widespread application of creatine supplementation. **Amino Acids**, v. 43, n. 2, p. 519–529, 19 nov. 2011.

KIOUS, B. M.; KONDO, D. G.; RENSHAW, P. F. Creatine for the Treatment of Depression. **Biomolecules**, v. 9, n. 9, p. 406, 1 set. 2019.

KREIDER, R. B. et al. International Society of Sports Nutrition position stand: safety and efficacy of creatine supplementation in exercise, sport, and medicine. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 14, n. 1, 13 jun. 2017.

LEWGOOD, J. et al. Efficacy of Dietary and Supplementation Interventions for Individuals with Type 2 Diabetes. **Nutrients**, v. 13, n. 7, p. 2378, 12 jul. 2021.

MAICAS-PÉREZ, L. et al. Effects of Creatine Supplementation after 20 Minutes of Recovery in a Bench Press Exercise Protocol in Moderately Physically Trained Men. **Nutrients**, v. 15, n. 3, p. 657, 28 jan. 2023.

MARSHALL, R. P. et al. Role of Creatine Supplementation in Conditions Involving Mitochondrial Dysfunction: A Narrative Review. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, v. 14, n. 3, p. 529, 26 jan. 2022.

POST, A. et al. Plasma creatine and incident type 2 diabetes in a general population-based cohort: The PREVEND study. **Clinical Endocrinology**, v. 94, n. 4, p. 563–574, 10 jan. 2021.

RIBEIRO, F. et al. Timing of Creatine Supplementation around Exercise: A Real Concern? **Nutrients**, v. 13, n. 8, p. 2844, 19 ago. 2021.

ROSCHEL, H. et al. Creatine Supplementation and Brain Health. **Nutrients**, v. 13, n. 2, p. 586, 10 fev. 2021.

SOLIS, M. Y.; ARTIOLI, G. G.; GUALANO, B. Potential of Creatine in Glucose Management and Diabetes. **Nutrients**, v. 13, n. 2, p. 570, 9 fev. 2021.

VAISY, Morad et al. A diminuição do conteúdo lipídico intramiocelular induzida pelo exercício, mas não pela creatina, melhora a sensibilidade à insulina em ratos. **A Revista de Bioquímica Nutricional**, v. 22, n. 12, pág. 1178-1185, 2011.

# IDENTIFICAÇÃO HUMANA POR DNA MITOCONDRIAL

## HUMAN IDENTIFICATION BY MITOCHONDRIAL DNA

Natalia Felix da Silva<sup>1</sup>

Carolina Batista Ariza Tamarozzi<sup>2</sup>

### RESUMO

O uso do DNA na identificação humana é fruto da revolução na Genética Moderna e é indispensável em estudos e análises forenses. Porém, em alguns casos onde o DNA nuclear não pode ser aplicado, o DNA mitocondrial (mtDNA) é a saída de sucesso para os cientistas. Este tipo de DNA é encontrado nas mitocôndrias, organelas intracelulares presentes nas células nucleadas do organismo humano, e seu genoma extranuclear e facilita a identificação de indivíduos. A partir da revisão de bibliografias sobre a identificação através de perfil genético em DNA mitocondrial, o presente trabalho pretende apresentar as vantagens e interesses da ciência acerca do assunto, bem como suas aplicações e seu uso em favores à sociedade e pesquisas. Foi realizado o levantamento de literaturas disponíveis em sites como PubMed, Google Acadêmico, SciELO e FSIGenetics, selecionadas preferencialmente entre os anos de 2012 a 2022, utilizando-se os termos combinados: DNA mitocondrial, haplogrupos, ancestralidade, dentre outros correlacionados. A identificação nos laboratórios é feita a partir da coleta ou exumação do material a ser analisado. Então, as etapas de amplificação e sequenciamento são usadas para a obtenção dos haplogrupos, que são grupos relacionados de sequências definidas por mutações compartilhadas e que podem indicar especificidade regional e interpessoal, que permitem a conclusão dos estudos sobre o mtDNA. O DNA mitocondrial é uma fonte eficiente para pesquisas forenses, traçar linhagens matrilineares, rotas comerciais e de migrações, pode contar uma história populacional e conscientizar a população quanto às suas origens, gerando maior valorização da diversidade genética.

**Palavras-chaves:** ancestralidade; DNA mitocondrial; identificação.

### ABSTRACT

The use of DNA in human identification results from the Modern Genetics Revolution and it is indispensable in forensic analysis and studies. However, in some cases, where the nuclear DNA cannot be applied, the mitochondrial DNA (mtDNA) is the successful choice among scientists. This type of DNA is found in mitochondria, intracellular organelles present in all human body cells, and its extracellular and circular genome favors the identification of individuals. Through literature review about identification via genetic profile in mitochondrial DNA, the present study aims to display the benefits and interests of science over the subject and its favors to society and research. The survey

<sup>1</sup> Graduanda em Biomedicina pelo Centro Universitário Filadélfia (UniFil). E-mail: natii@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Graduado(a) em Biomedicina pela Universidade Estadual de Londrina (UEL). Mestrado e Doutorado em Biologia Molecular pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Docente do curso de Biomedicina no Centro Universitário Filadélfia (UNIFIL). Email: carolina.ariza@unifil.br

was made of literature available in websites such as PubMed, Google Scholar and FSIGenetics, the writings were selected preferably between the years of 2012 to 2022, by using the combined terms: mitochondrial DNA, haplogroups, ancestry, among others correlated. The identification in the laboratories is made through samples or exhumation of the material to be examined. Then, the phases of amplification and sequencing are used to obtain haplogroups, related groups of sequences defined by shared mutation that can indicate regional and interpersonal specificity that allow the conclusion of the mtDNA studies. The mitochondrial DNA is an efficient source for forensic research, to trace matrilineal lineages, commercial and migration routes and it can also propagate a population history while raising awareness to a populace about its origins, therefore creating appreciation of genetic diversity.

**Keywords:** ancestry; mitochondrial DNA; identification.

## 1 INTRODUÇÃO

As mitocôndrias são organelas celulares responsáveis pela respiração celular e produção de ATP por fosforilação oxidativa. Além disso, participam no metabolismo de lipídeos e aminoácidos, e estão envolvidas na proliferação celular, apoptose e diferenciação celular (SATO; SATO, 1984).

Essas organelas possuem seu respectivo DNA genômico (mitogenoma) e apresentam cerca de 1 a 2% da mesma composição química do DNA nuclear (AMBROSIO, 2015). Estima-se que cada célula contenha 1000 mitocôndrias e que cada mitocôndria possua de 1 a 10 cópias deste, portanto, em apenas uma célula animal pode haver milhares de cópias (GAZI; MOHAMMAD, 2018).

Em 1963, o DNA mitocondrial foi identificado e isolado pela primeira vez por Margit Nass e Sylvan Nass, mas a sequência completa do primeiro mtDNA só foi publicada e estabelecida em 1981 pela *Cambridge Reference Sequence* (CRS) (AMORIM; FERNANDES; TAVEIRA, 2019).

O DNA mitocondrial humano é circular, possui aproximadamente 16.600 pares de base e codifica 13 componentes polipeptídicos estruturais na matriz mitocondrial para a fosforilação oxidativa (PEARCE, et al., 2017). Por causa da ausência de enzimas de revisão, o mitogenoma sofre uma taxa de mutação muito maior quando comparado ao genoma nuclear (CLAYTON, 1982).

O genoma é o que define todas as características codificadas no DNA de uma pessoa. Em cada célula humana há 2 tipos de DNAs, o nuclear e o mitocondrial, localizados respectivamente no núcleo e na mitocôndria (TURRINA et al., 2008).

O avanço da biologia molecular mostrou que a análise do DNA é vantajosa, pois é uma molécula estável quimicamente mesmo após um longo tempo e está em todas as células nucleadas do corpo humano (MALAGHINI et al., 2006).

Inicialmente as técnicas forenses de identificação humana partiam da análise do DNA nuclear. No entanto, em amostras em que o DNA nuclear está degradado, ou quando o material biológico não possui o DNA nuclear, como em fios de cabelo sem a raiz, a análise do DNA mitocondrial é a alternativa de maior sucesso para os cientistas (LOREILLE; IRWIN, 2011).

O DNA nuclear é muito maior, porém o mtDNA possui vantagens na aplicação forense. Amostras biológicas como unhas, ossos velhos, dentes e cabelo têm abundante mtDNA, mas raramente DNA nuclear (ANDERSEN; BALDING, 2018).

O mtDNA possui certa resistência quanto à degradação, pois possui maior número de cópias nas células, além de ser circular e estar presente dentro de uma organela com dupla membrana celular. Porém, essa elevada quantidade juntamente com sua elevada taxa de mutação possibilita a heteroplasmia (PINTO; CAPUTO; PEREIRA, 2016).

Portanto, a ciência forense utiliza o mtDNA para identificar pessoas desaparecidas e vítimas em desastres de massa, traçar linhagens maternas e excluir suspeitos em cenas de crime (AMBROSIO, 2015). Há ainda estudos que comprovam rotas comerciais históricas a partir da análise do mitogenoma de restos mortais (SELVAKUMAR; SAROJADEVI, 2009).

Devido à grande importância do mitogenoma, serão abordadas discussões sobre o DNA mitocondrial, seu uso na ciência e participação na sociedade, bem como esclarecimentos sobre conceitos acerca desta molécula. Também, serão citadas várias aplicações no qual o mitogenoma foi de extrema importância para a identificação humana, desvendar casos e confirmar fatos históricos.

## **2 MÉTODOS**

O presente trabalho foi realizado com base em revisão bibliográfica sobre a identificação humana através de perfil genético em DNA mitocondrial. O levantamento dos materiais foi realizado através de bases de dados de artigos científicos, como Google Acadêmico, PubMed, SciELO, utilizando como palavras-chaves: identificação

humana, perfil genético, marcadores moleculares e DNA mitocondrial. Foram adotados como critérios de exclusão artigos não relacionados ao tema e publicações que não estivessem nos idiomas português e inglês. Foram utilizados artigos publicados, preferencialmente, no período de 2012 a 2022.

### 3 DESENVOLVIMENTO

#### 3.1 História do DNA

O DNA (ácido desoxirribonucléico) é onde estão todas as informações genéticas de um indivíduo que foram herdadas dos genitores. É uma molécula longa e enovelada que, juntamente com proteínas, forma os cromossomos, os quais estão presentes no núcleo das células e são passados para as próximas gerações de um indivíduo (REINER, 2003).

A descoberta desta molécula se deu pela curiosidade de se entender como as características são passadas de pais para filhos e de como ocorrem as variabilidades entre espécies (OLIVEIRA, 2009).

O DNA foi identificado pela primeira vez em 1860 a partir de estudos de leucócitos por Johann Friedrich Miescher, um químico suíço que retirava amostras de bandagens com pus coletadas em uma clínica médica. Nos experimentos, ele percebeu que havia uma substância separada com propriedades diferentes das proteínas e a chamou de nucleína, pois acreditava que esta vinha do núcleo da célula. Porém, os cientistas acreditavam que a nucleína era simples demais para carregar o material genético e sustentavam a hipótese de que as proteínas faziam esse papel (RIBEIRO, 2014).

Em 1881, o químico Albrecht Kossel isolou os cinco nucleotídeos que constroem o DNA e RNA: adenina, citosina, guanina, timina e uracila. Além disso, nomeou a nucleína como ácido desoxirribonucleico (ADN ou DNA) e com seu trabalho, conquistou o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina em 1910 (SCHEID; FERRARI; DELIZOICOV, 2005).

A partir dos estudos de Mendel, em 1900 Walther Flemming descobriu os cromossomos e deu embasamento para que, mais tarde, Walter Sutton e Theodor Boveri criassem a teoria de que o material genético é transmitido de pais para filhos

pelo cromossomo, ajudando a explicar os estudos de herança de Gregor Mendel em 1856 (GENOME, 2021).

A estrutura do DNA foi uma das descobertas mais importantes no mundo da ciência e foi proposta pela primeira vez por James Watson e Francis Crick em 1953. Comprovaram, por meio da difração de raios-X, que o DNA é disposto em dupla hélice e composto de bases pareadas ao longo de um esqueleto de açúcar-fosfato, em que a ordem destas bases compõem o código da vida (PIRO, 2015).

Em 1977, em Cambridge no Reino Unido, Frederick Sanger e sua equipe de laboratório foram pioneiros no sequenciamento de DNA pela eletroforese, técnica que separa fragmentos de DNA em pares de base de acordo com tamanho e peso molecular através de uma corrente elétrica. Inicialmente os cientistas liam as bases de DNA à mão, processo que levava um longo período de tempo. Porém, esta técnica desenvolvida por Frederick Sanger serviu de base para as tecnologias atuais de sequenciamento de DNA e abriu portas para muitas novas descobertas. A partir deste sucesso, começaram a sequenciar outros genomas, como o DNA mitocondrial (LOGE; BRITO, 2021).

O DNA mitocondrial foi identificado e isolado pela primeira vez em 1963 por Margit Nass e Sylvan Nass, mas a sequência completa do primeiro mtDNA só foi publicada e estabelecida em 1981 pela *Cambridge Reference Sequence* (CRS) (AMORIM; FERNANDES; TAVEIRA, 2019).

O uso do DNA mostrou-se necessário para identificar indivíduos a partir do estabelecimento de perfis genéticos próprios, ou seja, as informações armazenadas no genoma de um sujeito é o que diferencia do outro. E em situações de desastres de massa, acidentes, assassinatos e demais crimes, a exigência de uma maior precisão de identificação em menor tempo pode ser saciada a partir da análise desta molécula (REINER, 2003).

O progresso da ciência forense teve seu sucesso em meados de 1980, quando Sir Alec Jeffreys, da Universidade de Leicester usou o DNA para identificar indivíduos. A partir disso, a molécula se tornou uma ferramenta poderosa para investigações criminais, podendo culpar criminosos, exonerar inocentes, identificar pessoas desaparecidas e relações parentais (PENA, 2005; DUARTE et al., 2001).

Existem, porém, situações em que o DNA nuclear não pode ser analisado,

como quando a amostra está degradada ou o material biológico não possui DNA nuclear. Nestas ocasiões, a perícia pode partir para a análise do DNA mitocondrial (LOREILLE; IRWIN, 2011).

### 3.2 O DNA mitocondrial

A análise do DNA mitocondrial (mtDNA) possui vantagens sobre a análise do DNA nuclear. O mtDNA está presente em maior quantidade na célula, pois uma única célula possui milhares de cópias deste; ele também é mais resistente à ação ambiental e degradação, pois a dupla membrana celular das mitocôndrias conferem maior proteção; e a herança uniparental dele, permite que parentes maternos distantes sejam identificados a partir de uma amostra para ser comparada, além de permitir traçar linhagens e histórias populacionais (MELTON; HOLLAND; HOLLAND, 2012).

Em 1984, no Departamento de Bioquímica da Universidade da Califórnia, começaram-se as análises de DNA nuclear antigo para verificar sua taxa de sobrevivência. Os pesquisadores examinaram o músculo de um quagga - espécie semelhante à zebra que foi extinta em 1883 – adquiriram clones de DNA nuclear e, a partir destes, adquiriram também o DNA mitocondrial (HIGUCHI et al., 1984).

A publicação da matéria incentivou o estudo do DNA antigo e a maioria dos pesquisadores focaram no DNA mitocondrial, visto que possui alto número de cópias nas células, maior sobrevivência quando comparado ao nuclear e a matrilinearidade permite identificação forense e de ascendências (WILLERSLEV; COOPER, 2004).

Deve-se entender que para interpretar os resultados de um sequenciamento de mtDNA, algumas questões como banco de dados de referência, heteroplasmia, herança matrilinear e recombinações precisam ser consideradas (BUDOWLE et al., 2003).

É fato que o DNA mitocondrial é exclusivo de origem materna, visto que as mitocôndrias dos espermatozoides não contribuem para componentes citoplasmáticos (PINTO; CAPUTO; PEREIRA, 2016). Estas são destruídas logo após a fertilização, no início da embriogênese, por destruição seletiva, inativação ou diluição. Durante a fertilização, o DNA mitocondrial paterno é degradado pela endonuclease G ou por mitofagia (YAN et al., 2019). Sendo assim, o genoma mitocondrial masculino é

totalmente destruído (AMORIM; FERNANDES; TAVEIRA, 2019).

Devido a esta característica, não há recombinação do mtDNA e a herança uniparental estrita pode permitir que parentes maternos afastados por gerações sirvam de amostras de referência para identificação de desaparecidos (TEMPLETON, et al., 2013).

### 3.2.1 Estrutura, composição e características

O DNA mitocondrial humano possui 16.569 pares de bases e sua taxa de mutação é maior e mais rápida em relação ao nuclear. Esta elevada taxa de mutação se deve à falta de mecanismos de reparo da molécula e baixa fidelidade da mtDNA polimerase (AMBROSIO, 2015).

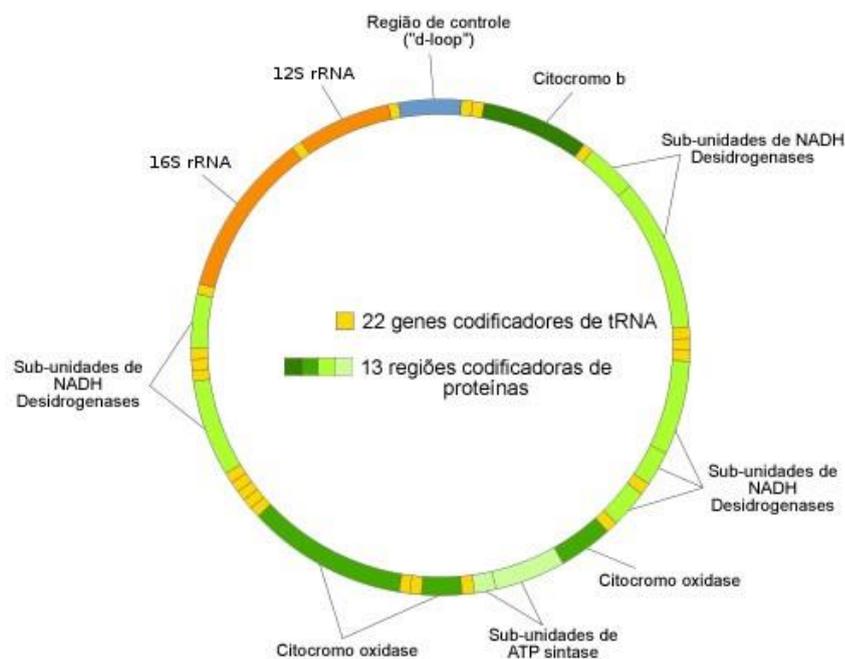
O polimorfismo gerado por estas mutações constantes pode ser usado como um relógio biológico. Ou seja, ao se estudar as regiões polimórficas, é possível se estabelecer o grau de parentesco entre indivíduos e populações atuais com os antigos, bem como as grandes migrações intercontinentais ao longo dos milhares de anos (STONEKING, 1994).

O genoma mitocondrial possui uma região codificadora e uma região de controle. A região de controle ou D-loop é responsável pelo controle da síntese de DNA e RNA na fase inicial da replicação (AMBROSIO, 2015).

A maior parte das variações de sequência entre os indivíduos estão nos segmentos da região de controle: na região hipervariável 1 (HV1) e na região hipervariável 2 (HV2). Há também uma terceira região (HV3) que pode ser útil quando as outras estiverem indistinguíveis. Estas regiões hipervariáveis são pequenas e não codificam proteínas, por isso, acumulam mais mutações e polimorfismos. Os polimorfismos levam às variações que acabam por distinguir os indivíduos e permitem os estudos populacionais e de histórias evolutivas. Estas características são úteis nos testes forenses, pois permitem a amplificação por PCR (AMORIM; FERNANDES; TAVEIRA, 2019).

Na figura abaixo, podemos observar a molécula de DNA mitocondrial e suas características.

**Figura 1** - Molécula de DNA mitocondrial humana.



**Legenda:** Representação da molécula de DNA mitocondrial formada por 16.569 pares de base. Em laranja estão os 2 genes que codificam os RNAs ribossômicos; em amarelo, os 22 genes que codificam RNAs transportadores; em tons de verde, os 13 genes que codificam as proteínas que participam na fosforilação oxidativa; e em azul, a região hipervariável (D-loop) onde ocorrem os polimorfismos, que pode ser dividida em hipervariável I, II e III.

**Fonte:** Adaptado de BUTLER (2005).

Em casos onde a diferenciação entre indivíduos não é possível apenas pela análise de regiões hipervariáveis, a tipagem de polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs), presentes na região codificadora do mtDNA, é importante para ampliar o grau de identificação. A sequência questionada então é comparada ao banco de dados ou amostra de referência, como o próprio indivíduo ou outro com vínculo materno. Se na comparação houver diferença em dois ou mais polimorfismos, pode-se concluir o estudo como compatível. Mas se diferem em apenas um nucleotídeo, o resultado é duvidável, portanto deve-se haver a verificação de outras regiões, como HV3 ou SNPs da amostra (AMBROSIO, 2015; FRIDMAN et al., 2011).

Várias abordagens alternativas foram desenvolvidas e novas tecnologias surgiram para a realização de análises de sequências de mtDNA, porém os métodos básicos permanecem praticamente inalterados. A amostra coletada de material biológico, como restos de esqueletos antigos e fios de cabelo, é amplificada de acordo com a qualidade do material a ser analisado. Após a amplificação, são feitos o

sequenciamento e a interpretação dos dados por softwares. Esses métodos simples permanecem em uso, no entanto, ensaios de matriz linear e dHPLC são outras opções viáveis e podem ser usados conforme o desejo de agilizar o processo, interpretação e perfis genéticos (PANETO, 2010).

Há dois tipos de abordagens básicas em estudos com o DNA mitocondrial na evolução humana: a abordagem à base de linhagem e a baseada na população. A abordagem de linhagem estuda os haplogrupos para desvendar as histórias das gerações de mtDA, enquanto na abordagem de população a pesquisa é voltada para a pré-história de um indivíduo ou populações de determinadas regiões geográficas e migrações (PAKENDROF; STONEKING, 2005).

Os haplogrupos são grupos relacionados de sequências definidas por mutações e que podem indicar especificidade regional. São formados por haplótipos, que são blocos de pares de bases de genes transmitidos às gerações e permanecem inalterados até que ocorra algum polimorfismo durante a evolução humana. Sendo assim, serve de marcador de linhagem e pode contar uma história populacional (PENA, 2000).

Portanto, cada denominação de haplogrupo é restrita a uma região, por exemplo: o haplogrupo L é restrito à África e o A, B, C e D são da Ásia e Novo Mundo (Tabela 1). Existem mais de 20 haplogrupos conhecidos e essa distribuição filogeográfica permite o conhecimento da origem geográfica da população, visto que 35% das mutações são específicas dos continentes. Com essa característica, é possível estimar as proporções de miscigenação das populações com rotas de migração já conhecidas ou não, pois apontam ancestralidade compartilhada de mtDNA (PINTO; CAPUTO; PEREIRA, 2016).

**Tabela 1** - Haplogrupos do mitogenoma e suas respectivas origens.

HAPLOGRUPO	ORIGENS
L0, L1, L2, L3	Africanos
A, B, C, D	Ameríndios
A, B, C, D, F, M, N, R, Z	Asiáticos
S, P, Q	Australianos
H, I, J, K, N, R, T, U, V, W, X	Europeus

**Fonte:** Adaptado de Stewart e Chinnery (2015).

Os SNP's são variações que ocorrem por mutações pontuais no DNA, mostram a presença de haplótipos diferentes em amostras. Haplótipos que não são tão frequentes mostram maior exatidão durante a análise da amostra questionada, já os que são muito frequentes mostram menor exatidão, pois muitos indivíduos de determinada população apresentam os mesmos polimorfismos. Há a possibilidade de a amostra bater com a de outro indivíduo sem vínculo ao suspeito, por isso a frequência do haplótipo que ocorre na população deve ser checada no banco de dados populacional de mtDNA, para não acontecer de um resultado ser liberado erroneamente (AMBROSIO, 2015).

A homoplasma é o termo que define quando todos os mtDNA presentes em uma célula são iguais. Uma pessoa pode ter heteroplasma se portar mais de um tipo de mtDNA. Estes dados são calculados em percentuais e variam entre 0 e 100% (BIANCO; MONTAGNA, 2016).

A heteroplasma pode se manifestar de diversas maneiras, como: um indivíduo pode apresentar mais de um tipo de mtDNA em apenas um tecido; ou pode ter heteroplasma em um tecido e em outro ser homoplasmático; ou ainda pode ter um tipo de mtDNA diferente em dois tipos de tecido. Quando se encontra heteroplasma em um indivíduo, pode haver diferença entre os mtDNA em uma única base, HV1 e HV2 (AMORIM; FERNANDES; TAVEIRA, 2019).

A heteroplasma pode mudar em uma única geração. Por exemplo: descendentes de uma mulher podem ter diferentes genótipos, mas a heteroplasma pode reverter-se, portanto um genótipo mutante pode tornar-se predominante durante muitas gerações (HOLLAND; MCQUILLAN; O'HANLON, 2011).

### **3.3 Banco de dados**

O uso do banco de dados de mtDNA é estritamente necessário para a identificação humana a partir do DNA mitocondrial. Por isso, diversos pesquisadores criaram uma árvore filogenética de haplogrupos presentes em todos os continentes. Desta forma, a padronização da geração e populações garantem a qualidade nos resultados das pesquisas (JUST et al., 2015).

No contexto forense, os bancos de dados populacionais são capazes de

estimar a raridade de haplótipos. O Genbank e o Mitomap são bancos que possuem os genomas mitocondriais e variações, apesar de serem atualizados constantemente não são usados como referências para estudos forenses, pois há sequências errôneas e não são satisfatórios (JOHNSON; WILSON-WILDE; LINACRE, 2014; LOTT et al., 2013).

Os bancos SWGDAM e EMPOP possuem os haplótipos da região controle de mtDNA, assim a disponibilidade crescente dessas informações maximiza a utilização no campo forense, porém ainda é preciso apuro. Então, pesquisadores não medem esforços para aumentar a disponibilidade de dados verificados do mtDNA populacional e colaborar para a infraestrutura de tecnologia necessária em casos forenses (PINTO et al., 2016).

A contaminação é uma das maiores preocupações em relação aos testes de DNA mitocondrial, por isso, a *Commission of the International Society of Forensic Genetics* (ISFG) criou orientações para as aplicações de polimorfismos de DNA na identificação humana. Estas medidas valem para o uso forense do mtDNA e para a criação de bases de dados populacionais. Dentre elas estão: condições laboratoriais apropriadas (instrumentos, vestimentas e reagentes exclusivos para os testes de mtDNA); uso de controles (negativo, branco e positivo); baixos níveis de contaminação toleráveis, já que podem acarretar falsos positivos; e a participação regular em programas de proficiência para laboratórios forenses (PARSON et al., 2014).

Estas medidas devem ser tomadas pois, ao longo dos anos, muitos erros foram detectados envolvendo estudos de mtDNA devido à contaminação e manuseamento incorreto de amostras, bem como erros de interpretação de sequência por causa da baixa qualidade de dados (PARSON et al., 2014).

### 3.4 Aplicações

Nas amostras altamente degradadas, dotadas de enriquecimento e hibridização em solução, melhoram significativamente o sequenciamento de genomas de mtDNA, além de reduzir custos e melhorar fluxos de trabalho. Este método foi responsável por identificar esqueletos humanos de militares australianos mortos na Segunda Guerra Mundial com aproximadamente 70 anos e também restos

arqueológicos de até 2.500 anos (TEMPLETON et al., 2013).

Um artigo publicado pela editora Elsevier em “*Archives of Oral Biology*” de 2016, mostrou que a identificação e sequenciamento do DNA mitocondrial nas amostras obteve mais sucesso do que o DNA nuclear. O uso de abordagens adicionais, como o DNA mitocondrial, foi o potencial encontrado para identificar o suspeito correto no estudo em marcas de mordidas de alimentos. Esse fato é importante para a ciência forense pois, em uma cena de crime, as evidências recolhidas podem sofrer distorções e modificações, acabando por complicar ou frustrar a análise do material (ZAPICO; MENÉNDEZ, 2016).

Um estudo de validação realizado em 1999 desenvolveu um protocolo de extração de DNA com um procedimento de limpeza, visando remover contaminantes de amostras. Este protocolo foi usado em uma investigação de um homicídio violento que havia acontecido em 1983 com um fragmento de unha recuperado da cena de crime. A sequência de mtDNA indicou que a amostra não era pertencente ao suspeito, mas de uma das vítimas (ANDERSON et al., 1999).

Há estudos que comprovam rotas comerciais históricas a partir da análise do mitogenoma de restos mortais (SELVAKUMAR; SAROJADEVI, 2009; PALANICHAMY, et al., 2014; WITAS et al., 2013).

A análise do mtDNA obtido de restos esqueléticos encontrados na Mesopotâmia, datados entre 2500 aC e 500 dC, mostrou relação com populações no subcontinente indiano (WITAS et al., 2013). Para comprovar a ligação genética, o antigo haplótipo mitocondrial mesopotâmico “MK 11G 107” foi comparado com 15.751 DNAs mitocondriais modernos registrados de populações da Índia. Os resultados apontaram que o haplótipo mesopotâmico correspondeu com populações da Índia, especialmente na cidade de Dingigul no estado de Tamil Nadu. Essa afinidade genética atestou a documentação histórica do comércio indo-romano através do porto de Malabar, onde itens preciosos como ouro, pérolas e têxteis eram importados de Tamil Nadu para Roma (PALANICHAMY et al., 2014).

Uma criança morta durante o naufrágio do Titanic em 1912 foi enterrada como desconhecida em Halifax, Nova Escócia. A exumação feita em 2001 permitiu o estudo do DNA mitocondrial e sequenciamento da região hipervariável 1, bem como o exame odontológico dos restos esqueléticos. O menino, Sidney Leslie Goodwin de 13 meses,

foi uma criança inglesa que pôde ser identificada cerca de 9 décadas após sua morte, graças à tipagem da região codificadora do mtDNA para casos forenses e ao banco de dados de sequências (JUST et al., 2011).

Em 1995, o famoso naufrágio La Belle que afundou em 1686 foi encontrado na costa do Texas. Dessa descoberta, foram recuperados dois esqueletos humanos que, ao final de 2015, serviram para testes genéticos forenses. O sequenciamento do mtDNA das amostras ósseas permitiu o estudo da ancestralidade biogeográfica, que foi concluída a partir de recursos de ancestralidade e ferramenta de metapopulação. Esta pesquisa provou a sensibilidade dos métodos laboratoriais forenses atuais na recuperação de DNA degradado em vestígios humanos arqueológicos e históricos (AMBERS et al., 2020).

Em 1984, o governo vietnamita devolveu aos Estados Unidos restos mortais humanos com intervalo pós-morte de aproximadamente 24 anos. Os métodos usados para a identificação à base de DNA nuclear não obtiveram sucesso, porém, a partir da amplificação de uma porção da região do DNA mitocondrial o estudo foi concluído. A sequência gerada a partir das amostras do esqueleto era idêntica à sequência de referência materna, assim como a sequência de dois irmãos da vítima (HOLLAND et al., 1993).

A freira croata Marija Krucifiksa Kozulić (1852-1922) foi enterrada em uma tumba em Rijeka junto com outras freiras, incluindo Tereza Kozulić (1861-1933), sua irmã. Em 2011, estes restos mortais foram exumados e encontrados deteriorados, por isso, o sequenciamento do genoma mitocondrial foi feito para identificar o haplótipo mitocondrial. Métodos de genômica forense identificaram dois haplótipos semelhantes e exclusivos que permitiram concluir o parentesco dos restos de Marija e Tereza, visto que era conhecido que as duas irmãs foram sepultadas juntas. Porém, não foi possível diferenciá-las pela análise do mtDNA, pois não se tem conhecimento de referências diretas de qualquer uma das irmãs (MARSHALL et al., 2020).

Em outubro de 2014, o Instituto Húngaro de Ciências Forenses conseguiu identificar a partir de restos mortais o Primeiro-Tenente Real Húngaro, Gyula Ágner, morto em 1944 durante a Segunda Guerra Mundial. Análises antropológicas e amplificação do DNA mitocondrial conseguiram determinar a linhagem materna e concluir a hipótese de que os restos ósseos pertenciam ao Tenente. As regiões

hipervariáveis do mtDNA foram amplificadas em diferentes reações de monoplexo e para a PCR foram usados diferentes primers para cada região (HV1 - F15971 / R16401; HV2- L48 / H408; HV3 - F403 / R599). Com base nos resultados, foi detectado repetidamente o mesmo haplótipo entre a amostra do osso e a sobrinha viva do falecido, visto que o Primeiro-Tenente Gyula Ágner não teve descendentes diretos (DUDÁS et al., 2019).

Em julho de 1918, durante a Revolução Russa, travou-se uma batalha entre os Bolcheviques e a Monarquia Russa que colocou fim à linhagem do Imperador Tsar Nicolau II e de toda sua família Romanov. Décadas depois, em 1991, foram desenterrados vários corpos no fosso de uma mina, dentre os quais, alguns suspeitavam ser da família real russa: o imperador, a imperatriz, seus cinco filhos e quatro servos (GILL et al., 1994; IVANOV et al., 1996; ROGAEV et al., 1996).

A perícia do Serviço de Ciência Forense da Grã-Bretanha reconstituiu nove esqueletos e utilizou o método de análise do DNA mitocondrial para verificar se eram pertencentes à mesma família. Destes, apontou que os três corpos de crianças encontrados e um de adulto, todos do sexo feminino, estavam relacionados e possivelmente seriam da família Romanov. Para autenticar o fato, o Duque de Edimburgo [Philip (1921-2021), marido da falecida Rainha Elizabeth (1926-2022)], sobrinho-neto ainda vivo da imperatriz russa, forneceu sua amostra de DNA e os resultados mostraram a mesma sequência na região de D-Loop do mtDNA, que permitiu concluir a identificação e associar o parentesco da Tsarina Alexandra e suas três filhas (GILL et al., 1994; IVANOV et al., 1996; ROGAEV et al., 1996).

Quanto à identificação do suposto Tsar Nicolau II, as sequências de DNA mitocondrial correspondiam a dois parentes maternos ainda vivos, porém em uma posição havia uma incompatibilidade de uma mistura de bases, indicando possível heteroplasmia no imperador. Tempos depois, o governo da Federação Russa pediu para analisar os restos mortais de Georgij Romanov, irmão do tsar, para se obter maiores informações sobre as heteroplasmias na linhagem materna da família Romanov. Finalmente, a sequência de Georgij e Nicolau eram correspondentes e confirmadas heteroplasmáticas na mesma posição, culminando na identificação do csar Nicolau (GILL et al., 1994; IVANOV et al., 1996; ROGAEV et al., 1996).

Apesar dos inúmeros pretendentes à linhagem Romanov e muitos dizerem-se

ser a grã-duquesa ou o grã-duque desaparecidos, os outros dois filhos do casal, Alexei e Anastásia, somente foram identificados em 2007. Um grupo de arqueólogos encontrou outros ossos a aproximadamente 70 metros do local onde a família

Romanov foi encontrada. Testes forenses de DNA, DNA mitocondrial e autossômicos STR e Y-STR, comparados às amostras de 1991, evidenciaram que os dois indivíduos recuperados eram de fato, Alexei e Anastásia (COBLE et al., 2009).

### 3.5 Eva mitocondrial

A origem exata dos humanos modernos é um tópico de debate na biologia evolutiva nas últimas décadas e esta história pode ser contada pelo genoma moderno que resultou de mudanças genéticas que afetaram os ancestrais. Os humanos modernos ou *Homo sapiens* evoluíram na África nos últimos 200.000 anos, antes de se espalharem pelo mundo (GENOME, 2021).

Em 1987, cientistas da Universidade da Califórnia estudaram os polimorfismos no DNA mitocondrial de 147 pessoas diferentes e de origens diferentes. Ao se construir a árvore filogenética, um ancestral comum foi apontado: Eva Mitocondrial (STONEKING, 1994).

Segundo estudos, a Eva mitocondrial foi uma mulher da África Subsaariana que viveu há aproximadamente 200 mil anos atrás e que carregou a linhagem mitocondrial ancestral do *Homo sapiens*. A Eva mitocondrial não foi a primeira ou única mulher na Terra naquele período, mas foi a mulher da qual vieram todas as gerações modernas. A provável razão para isso é que houve um processo evolutivo no tempo de Eva que extinguiu as demais espécies do gênero *Homo*, explicando seu DNA mitocondrial transmitido por todas as gerações (STONEKING, 1994).

Uma pesquisa realizada pela “Ciência Hoje” em 2003, utilizou amostras de duas centenas de homens brasileiros, brancos, de classe média e classe média alta, para traçar um Retrato Molecular do Brasil e verificar a presença de linhagens ameríndias e africanas na população branca. O resultado da análise do DNA mitocondrial destas amostras evidenciou importante contribuição matrilinear (aproximadamente 60%) de origem ameríndia (33%) e africana (28%). O estudo comprovou a história de colonização do território brasileiro, visto que houve grande miscigenação de europeus

com mulheres indígenas e africanas a partir do século XVI (SANTOS; MAIO, 2003).

Provou-se que, além de se traçar a ancestralidade brasileira em um “Retrato Molecular Brasileiro”, o DNA mitocondrial também permite a conscientização da população quanto às origens e, no cenário brasileiro, uma maior valorização da diversidade genética e certamente combate ao racismo, como ato político através da genômica (ELLIOT; BRODWIN, 2002).

Em 2006, o Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo publicou um estudo sobre a formação das comunidades afrodescendentes no Vale do Ribeira, área que ocupa 10% do sul de São Paulo e que abriga aproximadamente 30 remanescentes de quilombos. Foi analisado o DNA de 939 amostras de indivíduos nascidos de doze quilombos e de 104 amostras de indivíduos da cidade de São Paulo. A partir da amplificação e sequenciamento da região hipervariável I do DNA mitocondrial, observou-se importante contribuição ameríndia e africana, e apenas 1,5% europeia (RINCON, 2009).

Análises do cromossomo Y das mesmas amostras de DNA foram contrastadas com os resultados do mtDNA, pois indicaram pouca contribuição ameríndia. Portanto, pode-se interpretar que o homem indígena teve pouca importância na origem dessas comunidades no Vale Ribeira, ao contrário das mulheres, que com seu potencial de matrilinearidade, passaram o mtDNA aos descendentes (RINCON, 2009).

Portanto, a importante contribuição indígena preservada nos quilombos pode fornecer materiais para investigar a diversidade genética dos ameríndios. Além de que, este fato é importante se for considerado o despovoamento indígena provocado pela migração de europeus no continente americano (RINCON, 2009).

Portanto, pode-se compreender a importância da análise dos haplótipos e haplogrupos, que, a partir de uma amostra e comparação com o registro dos polimorfismos nos bancos de dados, levam à identificação de um indivíduo e sua origem, podendo explicar fatos históricos. Também, os estudos citados demonstram que a herança matrilinear do DNA mitocondrial contribuiu para desvendar parentescos entre amostras exumadas, traçar linhagens e identificar vítimas desaparecidas há anos.

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Visto o exposto, conclui-se que a Identificação Humana por DNA Mitocondrial possui diversas áreas de aplicação e relevância para a sociedade, linhagens matrilineares, ancestralidade e dados populacionais. Foram apresentadas atuações, exemplificações a partir de estudos já concluídos e também prós e contras. Mostrou-se também a importância da atualização dos bancos de dados do mtDNA, muito usado para as pesquisas forenses.

Também, o mtDNA mostra-se como uma fonte eficiente na conscientização da população quanto às suas origens, podendo gerar maior valorização da diversidade genética e certamente combate ao racismo.

756

## REFERÊNCIAS

ALLEN, M. et al. Mitochondrial DNA sequencing of shed hairs and saliva on robbery caps: sensitivity and matching probabilities. **J Forensic Sci**, 1998

AMBERS, A. et al. Forensic genetic investigation of human skeletal remains recovered from the La Belle shipwreck. **Forensic Science International**, v. 306, 2020.

AMBROSIO, I. B. Análises de SNPs do DNA mitocondrial em indivíduos residentes no estado do Espírito Santo para aplicação na identificação humana. **Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho"**, 2015.

AMORIM, A., FERNANDES, T., TAVEIRA, N. Mitochondrial DNA in human identification: a review. **PeerJ**, 2019.

ANDERSEN, M. M., BALDING D. J. How many individuals share a mitochondrial genome? **PLoS Genet**, 2018.

ANDERSON, T. D. et al. A validation study for the extraction and analysis of DNA from human nail material and its application to forensic casework. **J Forensic Sci**, 1999.

BARROWCLOUGH, G. F., ZINK, R. M. Fundos suficientes e tempo: mtDNA, nuDNA e a descoberta da divergência. **Mol Eco**, v. 18, p. 2934-2936, 2009.

BIANCO, B., MONTAGNA, E. The advances and new Technologies for the study of mitochondrial diseases. **Medical Developments, Einstein (São Paulo)** 14 (2), 2016.

BINLADEN, J., et al. Avaliando a fidelidade de sequências de DNA antigas

amplificadas a partir de genes nucleares. **Genética**, v. 172, p. 733-741, 2006.

BUDOWLE, B et al. Forensics and mitochondrial DNA: applications, debates, and foundations. **Annu Rev Genomics Hum Genet**, 2003

BUTLER, J. M. Forensic DNA typing: biology, technology, and genetics of STR markers. **Elsevier Academic Press**, 2, 2005.

CLAYTON, D. A. Replicação do DNA mitocondrial animal. **Célula**, 1982.

COBLE, M. D., et al. Mystery Solved: The Identification of the Two Missing Romanov Children Using DNA Analysis. **PlosOne**, 2009.

DUARTE, F., et. al. A avaliação do DNA como Prova Forense. **FUNPEC**, 2001.

DUDÁS, E. et al. Identification of World War II bone remains found in Ukraine using classical anthropological and mitochondrial DNA results. **International Journal of Legal Medicine**, v. 134, p. 487-489, 2019.

ELLIOT, C., BRODWIN, P. Genetics, identity, and the anthropology of essentialism. **Anthropological Quarterly**, v. 75, p. 323-330, 2002.

FRIDMAN, C. et al. SNPs in mitochondrial DNA coding region used to discriminate common sequences in HV1-HV2-HV3 region. **Forensic Science International Genetics Supplement Series**, v. 3, p. e75-e76, 2011.

GAZI, N. S., MOHAMMAD, Z. S. DNA mitocondrial e métodos para identificação forense. **Ciência Forense**, 2018.

GENOME. **Evolution of modern humans**. Your Genome, 2021. Disponível: <https://www.yourgenome.org/>. Acesso em: 05 ago. 2022.

GENOME. **O alvorecer do sequenciamento de DNA**. Your Genome, 2021. Disponível: <https://www.yourgenome.org/>. Acesso em: 05 ago. 2022.

GENOME. **The discovery of DNA**. Your Genome, 2021. Disponível: <https://www.yourgenome.org/>. Acesso em: 05 ago. 2022.

GENOME. **Unravelling the double helix**. Your Genome, 2021. Disponível: <https://www.yourgenome.org/>. Acesso em: 05 ago. 2022.

GILL, P., et al. Identification of the remains of the Romanov family by DNA nalysis. **Nat Genet**, 1994.

HIGUCHI, R., et al. Sequências de DNA do quagga, um membro extinto da família dos cavalos. **Natureza**, v. 321, p. 282-284, 1984.

HOLLAND M. M. et al. Mitochondrial DNA sequence analysis of human skeletal remains: identification of remains from the Vietnam War. **J Forensic Sci**, 1993.

HOLLAND M. M., MCQUILLAN M. R., O'HANLON K. A. Second generation sequencing allows for mtDNA mixture deconvolution and high resolution detection of heteroplasmy. **Croat Med J.**, v 52, p. 299-313, 2011.

IVANOV, P. L., et al. Mitochondrial DNA sequence heteroplasmy in the Grand Duke of Russia Georgij Romanov establishes the authenticity of the remains of Tsar Nicholas II. **Nat Genet**, 1996.

JODI, A. I. et al. Titanic's unknown child: the critical role of the mitochondrial DNA coding region in a re-identification effort. **Forensic Science International Genetics**, v. 5, p. 231-235, 2011.

JOHNSON, R. N., WILSON-WILDE, L., LINACRE, A. Current and future directions of DNA in wildlife forensic Science. **Forensic Science International Genetics**, v. 10, p. 1-11, 2014.

JUST R. S. et al. Full mtGenome reference data: Development and characterization of 588 forensic-quality haplotypes representing three U.S. populations. **Forensic Science International Genetics**, v.14, p. 141-155, 2015.

JUST, R. S. et al. Titanic's unknown child: the critical role of the mitochondrial DNA coding region in a reidentification effort. **Forensic Sci Int Genet**, 2011.

LOGE, F. S. D., BRITO, F. Sequenciamento de Sanger. **BIOINFO**, v. 1, 2021.

LOREILLE, O. M., IRWIN, J. A. Capillary Electrophoresis of Human mtDNA Control Region Sequences from Highly Degraded Samples Using Short mtDNA Amplicons. **Methods in Molecular Biology**, v. 830, p. 283-299, 2011.

LOTT, M. T. et al. MtDNA Variation and Analysis Using Mitomap and Mitomaster **Current Protocols in Bioinformatics**, v. 44, p. 1-26, 2013.

MALAGHINI, M. et al. Análises de Material Genético na Investigação Criminal, um relato sobre a evolução dos processos de padronização. **Labfa**, 2006.

MARSHALL, C. et al. A Forensic Genomics Approach for the Identification of Sister Marija Crucifiksa Kozulić. **Genes (Basel)**, 2020.

MELTON, T., HOLLAND, C., HOLLAND M. Forensic Mitochondrial DNA Analysis: Current Practice and Future Potential. **Forensic Sci Rev**, 2012.

OLIVEIRA, A. R. Quantificação de ADN nuclear e ADN mitocondrial por PCR em tempo real. **Universidade de Lisboa**, 2009.

PALANICHAMY, M. G., et al. Tamil merchant in ancient Mesopotamia. **PLoS One**, 2014.

PAKENDORF, B., STONEKING, M. Mitochondrial DNA and Human Evolution. **Annu Rev Genomics Hum Genet**, v. 6, p 165-183, 2005.

PANETO, G. G. et al. A single multiplex PCR and SNaPshot minisequencing reaction of 42 SNPs to classify admixture populations into mitochondrial DNA haplogroups. **Mitochondrion**, v. 11, p. 296-302, 2010.

PARSON, W. et al. DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics: Revised and extended guidelines for mitochondrial DNA typin. **Forensic Science International Genetics**, v. 13, p. 134-142, 2014.

PEARCE, S. F., et al. Regulação da expressão gênica mitocondrial de mamíferos: avanços recentes. **Tendências Bioquímica**, 2017.

PENNA, S. D. J. Determinação de identidade genética pelo DNA. **Parcerias Estratégicas**, v. 20, p. 447-460, 2005.

PENNA, S. D. J. Retrato Molecular do Brasil. **Ciência Hoje**, v. 27, n. 159, p. 16-25, 2000.

PINTO, L. B., CAPUTO I. G. C., PEREIRA M. M. I. Importância do DNA em Investigações Forenses: Análise de DNA Mitocondrial. **Brazilian Journal of Forensic Sciences Medical Law and Bioethics**, v. 6, n. 1, p. 84-107, 2016.

PIRO, O. E. Uma breve história do DNA, a molécula da vida. **IFSC/USP**, 2015.

REINER, T. A utilização do DNA na identificação de pessoas. **Centro Universitário de Brasília**, 2003.

RIBEIRO, M. C. M. Genética Molecular. **UFSC**, ed. 15, v. 3, 2014.

RINCON, D. Estudos de DNA Mitocondrial em Populações Remanescentes de Quilombos do Vale do Ribeira. **Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo**, 2009.

RIZZI, E., et al. Estudos de DNA antigo: Novas perspectivas sobre amostras antigas. **Genet Sel Evolução: GSE**, 2012.

ROGAEV, E. I., et al. Comparação de sequências de DNA mitocondrial de T.N. Kulikovskii-Romanov, sobrinho do czar Nikolaï II Romanov, com DNA dos supostos restos mortais do czar. **Genetika**, 1996.

SANCHES, N. M. Análise de polimorfismos da região controle do DNA mitocondrial em indivíduos residentes do estado do Espírito Santo para utilização na identificação

humana. **Universidade Estadual Paulista**, 2013.

SANTOS, L. G., SANTOS, R. S. A utilização do DNA mitocondrial para elucidação dos processos de evolução e variabilidade genética humana. **Enciclopédia Biosfera**, v.8, n.15, 2012.

SANTOS, R. V., MAIO, M. C. Qual “retrato do Brasil”? Raça, biologia, identidades e política na era genômica. **Mana**, v. 10, p. 61-95, 2003.

SATO, M., SATO, K. Herança materna do DNA mitocondrial por diversos mecanismos para eliminar o DNA mitocondrial paterno. **Biochim Biophys**, 1984.

SCHEID, N. M. J., FERRARI, N., DELIZOICOV, D. A construção coletiva do conhecimento científico sobre a estrutura do DNA. **Ciência & Educação**, v. 11, n. 2, p. 223-233, 2005.

SELVAKUMAR, P., SAROJADEVI, M. Development of Oligomeric Phthalonitrile Resins for Advanced Composite Applications. **Macromol**, v. 277, p. 190-200, 2009.

STEWART, J. B.; CHINNERY, P. F. The dynamics of mitochondrial DNA heteroplasmy: implications for human health and disease. **Nature Reviews Genetics**, v. 16, n. 9, p. 530–542, 2015.

STONEKING, M. Mitochondrial DNA and human evolution. **Journal of Bioenergetic and Biomembranes**, v. 26, p. 251-259, 1994.

TEMPLETON, J. EL., et al. DNA capture and next-generation sequencing can recover whole mitochondrial genomes from highly degraded samples from human identification. **Investigative Genetics**, 2013.

TURRINA, S., et al. De. STR typing of Archival Bouin’s fluid-fixed paraffin-embedded tissue using new sensitive redesigned primers for three STR loci (CSF1P0, D8S1179 and D13S317). **Journal of Forensic and Legal Medicine**, 2008.

WILLERSLEY, E., COOPER, A. Review Paper. Ancient DNA. **Proc Biol Sci**, v. 272, p. 3-16, 2004.

WITAS, H. W., et al. mtDNA desde o início da Idade do Bronze até o período romano sugere uma ligação genética entre o subcontinente indiano e o berço da civilização mesopotâmica. **PLoS One**, 2013.

YAN, C. et al. Mitochondrial DNA: Distribution, Mutations, and Elimination. **Cells**, 2019.

ZÁPICO, S. C.; MENÉNDEZ, S. T. Human mitochondrial DNA and nuclear DNA isolation from food bite marks. **Archives of Oral Biology**, v. 70, p. 67-72, 2016.

# CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS: CARACTERÍSTICAS, PATOGENICIDADE E IMPLICAÇÕES CLÍNICAS NA SAÚDE HUMANA.

## CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS: CHARACTERISTICS, PATHOGENICITY, AND CLINICAL IMPLICATIONS IN HUMAN HEALTH

Mariah Eduarda Gomes Silva<sup>1</sup>  
Ariane Mayumi Saito Bertao<sup>2</sup>

### RESUMO

O *Cryptococcus neoformans* é um fungo mesofílico e aeróbico com uma filogenia próxima aos cogumelos, caracterizado pela presença de uma cápsula de polissacarídeo distintiva. Encontrado em ambientes contaminados por fezes de aves, esse fungo pode desencadear a grave meningoencefalite fúngica, sendo sua patogenicidade influenciada por fatores ambientais, como a produção de melanina e a capacidade de adaptação. O presente trabalho tem como principal objetivo fornecer uma introdução abrangente ao *C. neoformans*, destacando suas características, patogenicidade e importância clínica, bem como uma visão sobre os tratamentos disponíveis, baseando-se na literatura disponível em sites de busca como Scielo e PubMed. Em conclusão, a complexa interação entre fatores ambientais, virulência e suscetibilidade a antifúngicos impacta a resposta ao tratamento da criptococose, uma doença grave que requer diagnóstico precoce e abordagem terapêutica personalizada para alcançar resultados positivos e lidar com sua taxa de mortalidade.

**Palavras-chave:** *cryptococcus neoformans*; micose sistêmica; virulência; epidemiologia; sorotipos.

### ABSTRACT

*Cryptococcus neoformans* is a mesophilic, aerobic fungus with a close phylogenetic relationship to mushrooms, characterized by the presence of a distinctive polysaccharide capsule. Found in environments contaminated with bird droppings, this fungus can trigger severe fungal meningoencephalitis, with its pathogenicity influenced by environmental factors such as melanin production and adaptability. This work aims to provide a comprehensive introduction to *C. neoformans*, highlighting its characteristics, pathogenicity, clinical significance, as well as an overview of available treatments, based on literature from search engines such as Scielo and PubMed. In conclusion, the complex interplay of environmental factors, virulence, and susceptibility to antifungals impacts the response to cryptococcosis treatment, a severe disease that necessitates early diagnosis and personalized therapeutic approaches to achieve positive outcomes and address its mortality rate.

**Keywords:** *cryptococcus neoformans*; systemic mycosis; virulence; epidemiology; molecular type.

<sup>1</sup> Mariah Eduarda Gomes Silva: Graduando do Curso de BIOMEDICINA do Centro Universitário Filadélfia - UniFil. mariah.1500@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Ariane Mayumi Saito Bertão: Professora mestre do curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia - UniFil. ariane.bertao@unifil.br

## 1 INTRODUÇÃO

Os criptococos são fungos mesofílicos, haploides, aeróbicos que possuem uma filogenia mais próxima aos cogumelos do que as leveduras utilizadas comumente como agentes fermentadores em meios como a panificação. Essas cepas podem ser encontradas no ambiente em árvores ou em solos que foram contaminados por fezes de aves. Em condições de grande disponibilidade de nutrientes, elas se desenvolvem como leveduras e se reproduzem por brotamento, tendo aproximadamente 5µm de diâmetro. Uma característica distintiva do criptococo é a sua cápsula de polissacarídeo, cuja produção é estimulada por condições que imitam o ambiente fisiológico humano, incluindo elevados níveis de dióxido de carbono, baixas concentrações de ferro e o pH neutro ou alcalino. A habilidade de utilizar diversas substâncias fenólicas, como a dopamina, para produzir melanina, contribui para a sua sobrevivência no hospedeiro e o diferencia de outras leveduras patogênicas (Bahn *et al.*, 2020).

A levedura patogênica encapsulada é amplamente reconhecida como o principal desencadeador da meningoencefalite de origem fúngica, uma condição potencialmente letal que tem representado um desafio considerável para a saúde pública por muitos anos especialmente em áreas com recursos limitados, afetando diversas populações como portadores do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), pacientes que receberam transplante de órgãos, e outros (Maziarz; Perfect, 2016). Células de levedura dessecadas ou esporos provenientes do ambiente podem ser inalados pelo hospedeiro, e, caso não sejam eliminados, podem resultar no desenvolvimento da Criptococose (Momin; Webb, 2021).

A criptococose é uma enfermidade infecciosa de alcance global e que apresenta diversas manifestações clínicas, originada por leveduras encapsuladas do gênero *Cryptococcus*. Duas espécies de *Cryptococcus* são frequentemente responsáveis por causar enfermidades, são eles *C. neoformans* e *C. gattii*. O *C. neoformans* foi primeiramente identificado como agente patogênico humano no final do século XIX, embora sua prevalência como causa comum de afecções humanas apenas tenha sido reconhecida no final da década de 1970 (Casadevall; Perfect, 1998).

Ainda que *C. neoformans* e *C. gattii* compartilhem muitas características como

leveduras altamente adaptadas ao ambiente, existem diferenças relevantes relacionadas à espécie e à linhagem, especialmente em relação à distribuição geográfica, habitats ambientais, predileção por hospedeiros e manifestações clínicas. À medida que as técnicas de identificação molecular evoluíram, conquistamos um entendimento mais profundo da patologia dessas leveduras encapsuladas, incluindo sua capacidade de se adaptar às pressões ambientais, explorar novos cenários geográficos e ocasionar doenças tanto em hospedeiros imunodeprimidos quanto em indivíduos aparentemente saudáveis (Park *et al.*, 2009). Apesar do aumento da disponibilidade e eficácia das terapias antifúngicas, a carga global da doença e taxa de mortalidade permanecem elevadas, e estratégias inovadoras de rastreamento e tratamento preventivo apresentam considerável potencial para causar um impacto sustentado e muito necessário nessa micose oportunista (Maziarz; Perfect, 2016).

O presente trabalho tem como principal objetivo fornecer uma revisão abrangente sobre o *C. neoformans*, dando destaque a características que contribuem com sua virulência como a formação de cápsula e produção de melanina, além de fornecer dados sobre epidemiologia no Brasil, abordagem terapêutica e mecanismos de resistência à antifúngicos.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

Dados foram obtidos a partir da revisão de literatura disponível sobre a criptococose, publicada por diversos autores, abrangendo publicações de 1963 até 2021. Uma maior ênfase foi dada na epidemiologia do *Cryptococcus* na América Latina e em seus fatores de virulência. Foram consideradas publicações em inglês dos bancos de dados PubMed e SciELO. A busca na literatura baseou-se nas palavras-chave "Cryptococcus neoformans", "cryptococcosis", "systemic mycosis", "molecular type", "virulence" e "epidemiology".

## **3 ESTRUTURA E CICLO DE VIDA**

Muitos fungos patogênicos que afetam plantas, animais e humanos possuem a capacidade de alternar entre a forma unicelular de levedura e uma forma multicelular de hifas. Essas mudanças em sua morfologia estão relacionadas à capacidade de

invadir, infectar, evadir e se disseminar nos hospedeiros. (Boyce; Andrianopoulos, 2015). O *C. neoformans* também pode passar por mudanças morfológicas entre as formas de levedura e hifas (Kozubowski; Heitman, 2012).

Assim como outros patógenos dimórficos adquiridos do ambiente, o criptococo é encontrado principalmente na forma de levedura virulenta nos tecidos do hospedeiro (Lin *et al.*, 2015). Seu ciclo de vida e a diferenciação celular associada influenciam profundamente a patogênese do criptococo (Heitman, 2012).

Primeiramente, diferentes morfologias celulares desencadeiam respostas imunológicas distintas no hospedeiro. Por exemplo, as hifas do criptococo são mais imunogênicas, induzindo respostas imunológicas do hospedeiro, o que leva a uma redução na sua virulência (Coelho *et al.*, 2014). Além dos hospedeiros mamíferos, as suas morfologias também afetam as interações do fungo com predadores, como amebas do solo e outros organismos do ambiente, o que pode ser crucial para sua sobrevivência (Lin *et al.*, 2015).

Em segundo lugar, o ciclo sexual gera esporos infecciosos capazes de penetrar profundamente nos pulmões do hospedeiro (Velagapudi *et al.*, 2009).

Por fim, a diversidade fenotípica e genotípica resultante da reprodução sexual aumenta a adaptabilidade do criptococo ao meio em que ele está exposto (Heitman, 2012).

A reprodução fúngica é determinada por uma região cromossômica chamada de localização do tipo de acasalamento (MAT, do inglês Mating-Type) (Fraser *et al.*, 2006). Alguns basidiomicetos possuem duas localizações MAT geneticamente distintas que classificam suas formas de acasalamento, determinando o sistema de acasalamento tetrapolar (Heitman, 2015). Uma localização MAT produz elementos de transcrição que iniciam rotas específicas de acasalamento, enquanto outra localização MAT fabrica feromônios e receptores de feromônios essenciais para distinguir o próprio do não próprio (Ni *et al.*, 2011). Vários alelos de localizações HD e P/R foram identificados em certos basidiomicetos, resultando em uma infinidade de variações de acasalamento dentro desses organismos (Heitman *et al.*, 2007).

#### 4 FATORES DE VIRULÊNCIA

O patógeno humano, *C. neoformans*, detecta o ambiente do hospedeiro e

demonstra a habilidade de se ajustar prontamente e de maneira eficaz a circunstâncias em constante mudança, promovendo sua sobrevivência tanto no ambiente como no organismo humano afetado, se adaptando por meio de mudanças celulares que induzem fenótipos que demonstram a capacidade de melhorar sua sobrevivência e proliferação (Alspaugh, 2015).

Atributos como a parede celular e alterações morfológicas desempenham funções fundamentais na forma como o fungo interage com os mecanismos do sistema imunológico do hospedeiro, responsáveis pelo reconhecimento do patógeno e resposta imunológica. Para a sobrevivência no hospedeiro, é de extrema importância a capacidade de preservação da integridade de seu DNA ou RNA. Diversas características microbianas são diretamente associadas à virulência desse patógeno oportunista, incluindo a elaboração de uma cápsula protetora, a produção de melanina e a liberação de múltiplas proteínas. Essas adaptações podem auxiliar na evasão do reconhecimento pelo sistema imunológico ou até mesmo causar danos ao desencadear um processo inflamatório por meio de proteínas excretadas (Alspaugh, 2015).

#### 4.1 Cápsula

A cápsula de carboidratos se sobressai como uma das características mais marcantes do *C. neoformans*. Diversas situações relacionadas ao hospedeiro, tais como um pH neutro/alcalino, concentrações elevadas de dióxido de carbono e a carência de ferro provocam a indução da formação capsular (Vartivarian *et al.*, 1993).

Dentro do organismo hospedeiro, a cápsula desempenha várias funções de proteção, incluindo a redução das reações imunológicas do hospedeiro, como a supressão de citocinas pró-inflamatórias, a diminuição de elementos do sistema complemento e diminuição da atividade das células apresentadoras de antígenos (APC) (Vecchiarelli *et al.*, 2003). As células encapsuladas não são reconhecidas por fagócitos sem que haja opsonização por anticorpos ou marcação pelo sistema complemento (Momin; Webb, 2021). Dessa forma, a presença de cápsula limita a resposta imunológica ao não estimular a produção de anticorpos, nem a cascata do sistema complemento, desencadeando mínima opsonização e conseqüentemente pouca fagocitose (Casadevall *et al.*, 2019).

Há uma abundância de evidências que sustentam o papel central da cápsula no auxílio à persistência do criptococo no interior do hospedeiro e na indução de doenças, fato evidenciado pela escassez de amostras clínicas com presença de *C. neoformans* não encapsulado ou com cápsula delgada. Adicionalmente, mutações específicas que resultam em falhas na cápsula geralmente resultam em uma diminuição considerável na virulência do fungo. Portanto, de maneira análoga às cápsulas bacterianas, a cápsula do *C. neoformans* é reconhecida como o fator mais determinante relacionado à sua virulência (O'meara; Alspaugh, 2012).

Diferentemente das bactérias, a cápsula do *C. neoformans* é minuciosamente regulada no que diz respeito à sua complexidade e tamanho, sendo essencial para a sobrevivência no interior do hospedeiro (O'meara; Alspaugh, 2012). A característica da cápsula do *C. neoformans* varia dependendo do órgão acometido pelo fungo, sugerindo que a capacidade de alterar de maneira dinâmica a estrutura de sua cápsula seja um fator relevante sobre sua virulência (Mcfadden *et al.*, 2007). Para que essa adaptação ocorra, o criptococo deve ser capaz de detectar o ambiente externo e responder adequadamente, especialmente porque a cápsula desempenha um papel crucial na sobrevivência dentro do hospedeiro, onde o grau de encapsulamento corresponde à sobrevivência em diversas condições específicas do hospedeiro (O'meara; Alspaugh, 2012).

Quando cultivado em ambientes laboratoriais ricos em nutrientes e propícios ao crescimento, o fungo forma uma cápsula delgada na superfície da célula. Contudo, o *C. neoformans* responde vigorosamente às condições específicas do hospedeiro, estimulando intensamente a produção da cápsula. Estudos *in vitro*, utilizando meios de cultura celular, descrevem que a presença de 5% de CO<sub>2</sub>, níveis reduzidos de ferro e a manutenção do pH 7, pH fisiológico humano, são fatores que contribuem para a formação de uma cápsula mais complexa (Zaragoza; Fries; Casadevall, 2003).

O polissacarídeo capsular é formado a partir de açúcares simples que passam por modificações e montagem em estruturas mais complexas (O'meara; Alspaugh, 2012). Os nucleotídeos de açúcares que constituem a cápsula são sintetizados no citoplasma, e sua estrutura central é montado próximo à parede celular, em organelas, para que possam ser mais facilmente transportados através da parede celular (Yoneda; Doering, 2006). Devido ao tamanho substancial do polissacarídeo capsular,

o transporte ativo é necessário para mover esse polímero através da parede celular (Yoneda; Doering, 2006). Após o transporte para o meio externo, é essencial manter a cápsula ao redor da célula, processo no qual a parede celular participa auxiliando a fixação da cápsula através de ligações diretas com componentes ou por meio de proteínas que facilitam a ligação capsular. A parede celular é uma substância dinâmica, exigindo uma remodelação contínua para brotamento, crescimento e acasalamento (O'meara; Alspaugh, 2012).

Um dos componentes da cápsula, o ácido hialurônico, apresenta papel crucial na capacidade do *C. neoformans* de atravessar a barreira hemato-encefálica (BHE), atravessando-a por meio de transporte facilitado (Jong *et al.*, 2007) causando a meningoencefalite. A BHE é majoritariamente composta por uma camada simples de células endoteliais (Huang; Jong, 2001). O ácido hialurônico reage com as células endoteliais da BHE como um fator de adesão para que posteriormente o fungo possa ser internalizado por essas células e enfim acometer o sistema nervoso central (Jong *et al.*, 2008).

## 4.2 Fosfolipases

As fosfolipases são enzimas responsáveis por clivar fosfolipídios com a finalidade de produzir diversos compostos com atividade biológica. Essas enzimas alteram o microambiente onde ocorre a infecção e então conseguem contribuir positivamente com a sobrevivência do *C. neoformans* no hospedeiro (Santangelo *et al.*, 2004).

A infecção pelo criptococo geralmente se dá inicialmente pelo acometimento pulmonar devido à inalação dos fungos presentes no ambiente e sua adesão nas células epiteliais do trato respiratório (Merkel; Cunningham, 1992). A superfície dos alvéolos pulmonares é revestida por um surfactante, para reduzir a tensão superficial e impedir que as finas paredes alveolares colabem, composto essencialmente por fosfolipídios e proteínas (Van De Wetering *et al.*, 2004).

Exemplos de como esse grupo de enzimas podem afetar a sobrevivência do criptococo no hospedeiro são os estudos que visam descrever a atividade da fosfolipase B. Cepas com alterações no gene da fosfolipase B (PLB1) demonstram uma capacidade reduzida de sobreviver em macrófagos em cultura celular. A cepa

com a deleção do gene *plb1* apresentou alteração morfológica significativa, resultando na formação de células aumentadas e uma diminuição de 50% na taxa de proliferação intracelular em comparação com a cepa selvagem (Alspaugh, 2015). Além disso, a PLB1 apresenta função na degradação de dipalmitoil fosfatidilcolina, o principal componente do surfactante pulmonar, facilitando o processo de adesão do fungo às células pulmonares (Ganendren *et al.*, 2006).

### 4.3 Vesículas extracelulares

Diversos elementos associados à patogenicidade da levedura *C. neoformans* necessitam que haja o transporte dos seus sítios de produção intracelulares para locais fora da célula ou na sua superfície, por exemplo a cápsula polissacarídica e até mesmo melanina. Diversos componentes dos mecanismos de secreção atípica desempenham um papel na exportação do polissacarídeo da cápsula e de outras moléculas associadas à virulência. Alguns desses componentes influenciam a montagem do complexo de Golgi e a estrutura da membrana, indicando que as vias de secreção não convencionais englobam estruturas ligadas à membrana movendo-se de dentro para fora da célula. Essas estruturas foram observadas na forma de microvesículas, encontradas tanto no interior das células quanto no espaço extracelular (Rodrigues *et al.*, 2008).

### 4.4 Parede celular

Além de produzir enzimas e estruturas específicas que promovem sua sobrevivência, o criptococo também possui a capacidade de ajustar ativamente componentes e estrutura de sua parede celular em resposta a sinais específicos do hospedeiro (Baker *et al.*, 2007). Essa alteração resulta na evasão do sistema imunológico, ao ocultar antígenos de superfície que são reconhecidos pelas APCs. (Bose *et al.*, 2003, O'meara; Alspaugh, 2012).

A parede celular possui como uma de suas funções a ancoragem para a cápsula, e células do tipo selvagem mantêm a parede celular de maneira propícia à ligação da cápsula (Reese; Doering, 2003).

#### 4.5 Urease

A urease é uma enzima encarregada de converter ureia em amônia e dióxido de carbono, tendo sua expressão regulada no *C. neoformans* pela disponibilidade de nitrogênio no meio em que está presente (Singh *et al.*, 2013). Foi constatado que a urease tem papel na virulência de diversos outros agentes patogênicos e também se mostrou ser um fator de virulência do *C. neoformans* (Kozel *et al.*, 2000). Essa enzima influencia diretamente no desfecho das leveduras internalizadas pelos macrófagos, afetando a capacidade de adaptação ao fagossomo, retardando sua replicação e assim aumentando a disseminação do fungo no hospedeiro (Fu *et al.*, 2018).

#### 4.6 Melanina

Uma substância é classificada como melanina quando exibe uma coloração escura, é insolúvel em água ou solventes orgânicos, demonstra resistência na presença de ácido concentrado e pode ser descolorido por agentes oxidantes (Nosanchuk; Casadevall, 2003). As melaninas são substâncias policromáticas com carga negativa e propriedades hidrofóbicas, caracterizadas por uma elevada massa molecular (Jacobson, 2000).

Melaninas são pigmentos produzidos por uma vasta gama de microorganismos, incluindo cepas de bactérias patogênicas, fungos e helmintos. A melanização desempenha um papel essencial na patogênese microbiana, uma vez que foi correlacionada com a virulência em diversos microorganismos. A melanina parece intensificar a virulência, reduzindo a susceptibilidade dos microorganismos melanizados aos mecanismos de defesa do hospedeiro. Contudo, a interação entre microorganismos melanizados e o hospedeiro é intrincada e envolve respostas imunológicas a antígenos relacionados à melanina. Além disso, a produção de melanina também foi relacionada à proteção contra desafios ambientais. Perturbar a melanização emerge como uma estratégia viável no desenvolvimento de fármacos antimicrobianos e pesticidas (Nosanchuk; Casadevall, 2003).

O pigmento desempenha uma ampla variedade de funções. Elas podem servir como conversores de energia, participar da ligação de diversos fármacos e compostos, e influenciar a integridade celular, conforme discutido por Hill (1992). Além

disso, as lacases têm a capacidade de aumentar a virulência de maneira não relacionada à síntese de melanina. Há evidências sugerindo que a lacase presente em *C. neoformans* intensifica a virulência ao inibir a resposta oxidativa em fagossomos nos macrófagos, uma consequência da conversão de Fe<sup>3+</sup> para Fe<sup>2+</sup> (Nosanchuk; Casadevall, 2003). Adicionalmente, anticorpos e fagócitos que se ligam à melanina têm sido empregados para marcar as células de *C. neoformans* que possuem melanina na parede celular, conforme demonstrado por Nosanchuk *et al.* (1998) e Rosas *et al.* (2000). Notavelmente, a descoberta da presença de melanina na parede celular de *C. neoformans* contrasta com a organização da melanina nos melanócitos de mamíferos, onde ela se encontra exclusivamente em vesículas especializadas conhecidas como melanossomas.

O estudo de Nosanchuk e Casadevall (2003) conclui que a infecção por uma variante fortemente pigmentada de *C. neoformans* prejudica a fase inicial da reação imunológica, o que é evidenciado pela redução na produção de TNF- $\alpha$  e pela diminuição na proliferação de linfócitos em comparação com uma linhagem com pouca melanização. Além disso, quando camundongos foram infectados intracerebralmente com uma variação albina de *C. neoformans*, isso resultou em danos mínimos nos tecidos e estimulou a liberação de IL-12, IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , enquanto uma cepa revertida produtora de melanina induziu danos substanciais nos tecidos e suprimiu a resposta de citocinas.

#### 4.7 Proteína antifagocítica 1

A proteína antifagocítica 1 (App1) é uma proteína produzida pelo criptococo sendo secretada para o meio extracelular e é encontrada na corrente sanguínea de indivíduos infectados. Como o início da infecção se dá nos pulmões através da inalação do fungo, os macrófagos presentes nos alvéolos do hospedeiro desempenham um papel crucial na resposta imune contra a levedura (Momin; Webb, 2021).

A App1 foi identificada como uma proteína localizada na via da síntese de ceramida fosforilada de inositol, que dificulta a ingestão da levedura. A proteína bloqueia tanto a aderência quanto a ingestão da levedura (Luberto *et al.*, 2003). Foi determinado que a App1 suprime a fagocitose por meio de um mecanismo mediado

pelo sistema complemento, ligando-se a receptores da via alternativa de ativação do sistema (Stano *et al.*, 2009). O estado imunológico do hospedeiro está diretamente relacionado com a inibição da fagocitose mediada pela proteína App1. Em pacientes imunocompetentes, a inibição da fagocitose resulta em crescimento descontrolado da levedura e na sua disseminação para o sistema nervoso central (Momin; Webb, 2021).

#### 4.8 Interação hospedeiro-patógeno

Células que desempenham o papel inicial no reconhecimento de antígenos pelo sistema imunológico, as APCs que são fagócitos e englobam os neutrófilos, células dendríticas e principalmente os macrófagos, desempenham um papel de extrema importância ao proteger o organismo de infecções por meio da ingestão e destruição de patógenos (Greenberg; Grinstein, 2002).

Os macrófagos hospedeiros são essenciais para o controle do patógeno, pois a depleção de macrófagos foi observada como um fator de impacto negativo na contenção da carga fúngica. A eliminação dos macrófagos, mesmo após a estabilização da infecção, resulta em um aumento na carga fúngica, indicando que eles continuam a contribuir persistentemente para a dinâmica hospedeiro-patógeno mesmo após o início da infecção. Uma taxa significativa de crescimento intracelular é observada entre 2 e 8 horas após a infecção, o que poderia explicar o surgimento precoce dos criptococos intracelulares. Isso sugere que um crescimento intracelular acelerado também pode funcionar como um mecanismo de defesa para o hospedeiro nas fases iniciais da infecção, dada a redução do dano tecidual decorrente da expansão extracelular (Momin; Webb, 2021).

Após a fagocitose, o *C. neoformans* passa por mudanças substanciais em seu perfil fenotípico como aumento na atividade de genes associados ao estresse oxidativo, transporte de hexoses, replicação e metabolismo de lipídios, entre outros processos. Ainda, alguns genes apresentam uma diminuição na sua expressão, como os genes envolvidos na produção proteica (Fan *et al.*, 2005).

Diferente de alguns organismos que desenvolveram estratégias para sobreviver dentro do fagossomo e eventualmente escapar do ambiente intracelular por meio da lise da célula hospedeira para infectar outros tecidos (Cossart; Sansonetti, 2004), o *C. neoformans* possui a capacidade de ser liberado dos macrófagos sem que

ocorra alteração em sua morfologia e na morfologia da APC que havia o fagocitado. A indução da expulsão do fungo sem que haja morte celular e conseqüentemente a inflamação sugere que esse processo seja importante para sua patogenicidade (Fadok, 1999).

#### 4.9 morfologia mitocondrial

Um estudo realizado por Hansong (2009) atestou que a maior virulência em algumas cepas do criptococo está ligada diretamente com a capacidade de mutação da morfologia mitocondrial de difusas e globulares para tubular quando em crescimento intracelular.

A morfologia tubular das mitocôndrias é comumente atribuída à fusão mitocondrial, um mecanismo que possibilita a colaboração entre as mitocôndrias dentro de uma célula (Chen *et al.*, 2003). Esse mecanismo desempenha um papel fundamental na proteção celular contra mutações do mtDNA, permitindo a compensação funcional dos produtos gênicos do mtDNA (Chan, 2006.). Além disso, foi observado que a fusão mitocondrial desempenha um papel na preservação da viabilidade da célula, evitando a morte celular.

### 5 EPIDEMIOLOGIA

*Cryptococcus* spp. é um gênero de fungo basidiomiceto que é encontrado distribuído de forma geral pelo ambiente, possuindo mais de 30 espécies registradas. No entanto, somente duas espécies de criptococos são patógenos comumente relacionados aos humanos, sendo elas *C. neoformans* e *C. gattii*. As infecções causadas por *C. neoformans* são bem descritas na literatura e estão relacionadas fortemente com o acometimento de pacientes imunodeprimidos, já o *C. gattii* é conhecido como um criptococo causador de doença em hospedeiros imunocompetentes (Maziarz; Perfect, 2016).

As duas variantes do criptococo também são distintas quanto aos seus reservatórios naturais. O principal reservatório de *C. neoformans* são fezes de pombos e o solo contaminado com excrementos de aves. Em contraste, já os principais reservatórios naturais de *C. gattii* são troncos de árvores de diferentes espécies como *Eucalyptus* L'Her., *Moquilea* Aubl., *Ficus* L. e *Guettarda* L. (KwonChung *et al.*, 2002)

## 5.1 Variantes

Baseado nas diferenças estruturais presentes na cápsula polissacarídica, o gênero é dividido em 3 variedades, 5 sorotipos e 8 subtipos moleculares. A subdivisão das variantes, sorotipos e genótipos proposta consiste na classificação do *C. neoformans* var. *grubii* como sorotipo A e genótipos VNI, VNII e VNB, *C. neoformans* var. *neoformans* como sorotipo D e genótipo VNIV, e outras espécies como *C. gattii*, *C. bacillisporus*, *C. deuterogattii*, *C. tetragattii* e *C. decagattii* como sorotipos B e genótipos que variam de VGI a VGIV (Hagen *et al.*, 2015).

*C. neoformans* var. *grubii*, sorotipo A, apresenta distribuição mundial e é responsável por aproximadamente 95% das infecções causadas por criptococos. As demais infecções, distribuídas nos 4 a 5% restantes, são causadas pelos sorotipos D, B ou C, ou seja, *C. neoformans* var. *neoformans* e *C. neoformans* var. *gattii* respectivamente. Diferente do sorotipo A, o *C. neoformans* var. *neoformans* é comumente observado em países europeus apesar de não ser restrito a eles, enquanto o *C. neoformans* var. *gattii* apresenta apresentar uma restrição geográfica a países de clima tropical e subtropical como o Brasil (Maziarz; Perfect, 2016).

A realização de estudos de tipagem molecular para a maior compreensão da espécie *C. neoformans* var. *gattii* revelou que há uma ampla variedade genética intraespécie desse sorotipo, levando à descrição dos sorotipos híbridos entre sorotipos A e B e sorotipos B e D (Bovers *et al.*, 2006). *C. gattii* passa a ser reconhecido como um complexo de espécies (Meyer *et al.*, 2009). Quatro genótipos são descritos dentro do complexo de espécies *C. gattii*, sendo eles VGI/AFLP4, VGII/AFLP6, VGIII/AFLP5, e VGIV/AFLP7 (Chen; Meyer; Sorrell, 2014).

Utilizando a técnica de análise Random Amplified Polymorphic DNA (RADP), é possível subdividir o *C. gattii* em 3 grandes tipos moleculares, sendo eles VGI, VGII, e VGIII (Ruma *et al.*, 1996). O tipo molecular VGIV foi descrito utilizando a técnica de PCR figerprinting (Meyer; Mitchell, 1995).

Nos continentes americanos, VGII e VGIII são as cepas mais comuns encontradas em amostras clínicas, veterinárias e ambientais, com a maior parte dos isolados VGII originando-se na região da América do Sul (Meyer *et al.*, 2003).

## 5.2 Epidemiologia no Brasil

Um estudo realizado por Firacative, Meyer e Castañeda (2021), utilizando dados moleculares de domínio público contendo informações sobre 5686 isolados clínicos, veterinários e ambientais de criptococo, constatou que o criptococo responsável pela maior parcela de infectados é o *C. neoformans* var *grubii*, ou sorotipo A (Hagen *et al.*, 2015), de genótipo VNI sendo comumente isolado de pacientes imunodeprimidos. O segundo genótipo mais isolado de infecções criptocócicas, acometendo indivíduos previamente saudáveis, é o VGII da espécie *C. gattii* (Firacative *et al.*, 2021).

De acordo com a análise feita por Martins *et al.* (2011) na identificação dos padrões moleculares de espécies de *C. neoformans* responsáveis por causar meningite em pacientes, tanto imunodeprimidos quanto imunocompetentes, em Terezinha Piauí (BR), temos que o genótipo VNI é encontrado na maioria das vezes relacionado à criptococose em pacientes imunodeprimidos, enquanto o genótipo VGII é isolado em adultos e crianças imunocompetentes.

Um estudo atual realizado por Nascimento *et al.* (2021), ao comparar dados epidemiológicos e clínicos de pacientes com doença causada pela presença do criptococo, obteve os seguintes dados: a manifestação mais comum da criptococose por *C. neoformans* de genótipo NVI é a meningite e criptococemia não sendo somente associado com indivíduos imunodeprimidos, mas também com pacientes que sofrem imunossupressão pelo uso de medicamentos e portadores de comorbidades como diabetes mellitus. Os genótipos mais frequentemente isolados de infecções causadas por outros sorotipos de criptococo são VGII (*C. neoformans* var. *deuterogattii*), seguido por VGI (*C. neoformans* var. *gattii*), tendo prevalência na infecção de pacientes imunocompetentes (Nascimento *et al.*, 2021).

Utilizando dados provenientes de 356 amostras de isolados clínicos de criptococo brasileiras que incluíam informações sobre a origem dos isolados, fatores de risco dos hospedeiros, tipos de espécies, características de sorotipagem, acasalamento e tipos moleculares identificados por técnicas de biologia molecular, Trilles *et al.* (2008) obteve uma visão sobre a distribuição dos diferentes genótipos do fungo no território brasileiro.

### 5.3 Pacientes transplantados

Os pacientes receptores de transplante de órgãos sólidos (TOS) enfrentam um risco significativo de infecções fúngicas invasivas (IFIs) devido a vários fatores que não incluem apenas seu estado de saúde geral, mas também as complicações técnicas associadas à cirurgia. Além disso, a imunossupressão, uma parte fundamental do processo de transplante para prevenir a rejeição do órgão, torna esses pacientes particularmente suscetíveis a infecções fúngicas (Neofytos *et al.*, 2010).

O estudo realizado por Neofytos *et al.* (2010), após analisar 429 pacientes que receberam transplantes e 515 IFIs, constatou que as três infecções mais frequentes são causadas respectivamente pelos patógenos *Cândida* (59% dos isolados), *Aspergillus* (24,8%) e por criptococo (7%).

A distribuição das IFIs varia conforme o órgão que foi transplantado (SINGH, N. 2003). A criptococose é relatada com mais frequência entre pacientes receptores de rins e fígados em comparação com aqueles que receberam outros órgãos (Neofytos *et al.*, 2010).

## 6 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

*C. neoformans* e *C. gattii* demonstram propensão para desencadear condições clínicas no sistema respiratório e no sistema nervoso central (SNC). Outras regiões acometidas abrangem o sistema tegumentar ou pele, a glândula prostática, as estruturas oculares e o sistema esquelético e articular. Entretanto, é importante salientar que esta levedura pode difundir-se extensivamente e afetar praticamente todos os órgãos do corpo em indivíduos imunossuprimidos, o que o confere a capacidade de acometer qualquer tecido do corpo.

### 6.1 Infecção pulmonar

O trato respiratório inferior desempenha o papel primordial como a principal porta de entrada para o criptococo. As manifestações clínicas da criptococose pulmonar variam desde uma infecção silenciosa nas vias aéreas até a detecção de um nódulo pulmonar simples por uma técnica de diagnóstico por imagem, como a radiografia torácica, ou mesmo o desenvolvimento de uma pneumonia grave,

resultando em uma síndrome respiratória aguda (Maziarz; Perfect, 2016).

Em um hospedeiro normal, cerca de um terço das pessoas pode desenvolver uma infecção pulmonar isolada e assintomática, somente podendo ser identificada por meio de uma radiografia de tórax. Os achados radiográficos mais comuns em casos de criptococose envolvem nódulos não mineralizados únicos ou múltiplos e infiltrações bem definidas nos pulmões. No entanto, também podem ser observados derrames pleurais, linfonodos hilares inchados e cavidades. Além do que, pacientes com criptococose pulmonar podem rapidamente apresentar sintomas tipicamente associados à pneumonia (Warr *et al.*, 1968) como tosse, chiado, coriza, crepitações, febre, roncosp, falta de ar, dor de cabeça, dor no peito, diarreia e mialgia (Wang *et al.*, 2012).

Em um indivíduo imunocomprometido, a pneumonia causada pelo criptococo geralmente se manifesta com sintomas e pode progredir rapidamente para síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), mesmo na ausência de acometimento do sistema nervoso central (SNC) (Maziarz; Perfect, 2016).

Os testes sanguíneos para detecção do antígeno de polissacarídeo do criptococo geralmente fornecem resultados negativos em casos de criptococose pulmonar isolada genuína. Entretanto, ocasionalmente, podem apresentar resultados positivos na ausência de envolvimento do SNC ou de outras áreas de infecção evidentes. Em pessoas imunocomprometidas nas quais o *C. neoformans* é detectado no pulmão ou em outros locais estéreis do corpo, é aconselhável considerar a realização de uma punção lombar para excluir meningoencefalite, independentemente dos sintomas do paciente ou dos resultados do teste de antígeno no sangue. A única situação na qual uma punção lombar preventiva pode não ser considerada necessária é quando o criptococo é identificado nos pulmões de um paciente aparentemente imunocompetente, sem sintomas claros de envolvimento do SNC e quando a doença parece estar restrita clinicamente à região pulmonar (Maziarz; Perfect, 2016).

## 6.2 Infecção do SNC

As manifestações clínicas da criptococose no sistema nervoso central abrangem uma ampla variedade de sintomas e consequências que incluem dor de cabeça, elevação da temperatura corporal, comprometimento dos nervos cranianos, alteração do estado cognitivo, letargia e sinais de inflamação das meninges (Perfect;

Casadevall, 2002).

Os sintomas costumam ocorrer ao longo de algumas semanas. Contudo, em algumas situações os pacientes podem apresentar um início mais súbito ou até mesmo a ausência de características comuns como a cefaléia. Em pacientes gravemente imunocomprometidos afetados pela criptococose do sistema nervoso central, especialmente aqueles com infecção pelo HIV, a carga do organismo fúngico geralmente é substancial, podendo ultrapassar 1 milhão de células de levedura por mililitro de LCR. Esses indivíduos podem experimentar então um início mais rápido de sinais e sintomas, níveis mais elevados de antígeno polissacarídeo no LCR e pressão intracraniana aumentada em comparação com outros indivíduos imunocompetentes. Embora a gravidade da doença seja principalmente influenciada pelos fatores imunológicos do hospedeiro, diferentes espécies e cepas de *C. neoformans* podem resultar em diferentes apresentações clínicas, afetando a abordagem do tratamento (Maziarz; Perfect, 2016).

### 6.3 Infecção de pele

As infecções da pele surgem como a terceira manifestação clínica mais comum da criptococose, onde as anormalidades cutâneas se apresentam de diversas maneiras. Essas anormalidades frequentemente são indistinguíveis das associadas a outras infecções, tornando a realização da biópsia dérmica, seguida de cultivo e análise histopatológica, passos essenciais para a obtenção de um diagnóstico definitivo (Maziarz; Perfect, 2016).

A infecção cutânea criptocócica primária é altamente incomum e normalmente está associada a lesões cutâneas e à introdução direta do microrganismo, portanto, a manifestação de irregularidades cutâneas geralmente sinaliza a presença de uma infecção disseminada (Christianson *et al.*, 2003).

Pacientes que receberam transplante de órgãos e que estão em tratamento utilizando fármacos imunossupressores, mostram-se mais inclinados a desenvolver infecções cutâneas, de tecidos moles e infecções osteoarticulares originadas pelo criptococo (Singh *et al.*, 1997).

## 6.4 Infecção da próstata

A próstata é uma localização que ocasionalmente pode ser afetada pelo criptococo, não sendo um sítio de infecção incomum, mas, em geral, a criptococose prostática costuma ser assintomática (Maziarz; Perfect, 2016).

A infecção da próstata pelo *C. neoformans* pode progredir para criptococemia, o acometimento da corrente sanguínea pelo criptococo, após intervenções cirúrgicas urológicas na próstata (Allen *et al.*, 1982). Assim, a próstata pode desempenhar um papel crucial como um grande reservatório para a reparação da doença em pessoas com uma carga substancial de tecido fúngico (Larsen *et al.*, 1989).

## 6.5 Infecção dos Olhos

A visão prejudicada pode ser associada tanto à invasão de fungos no nervo óptico quanto à disfunção vascular causada pelo aumento da pressão intracraniana. O primeiro mecanismo resulta em uma rápida deterioração da visão com poucas opções de tratamento eficazes, enquanto o segundo mecanismo provoca uma deterioração visual mais gradual que pode ser interrompida por meio de um controle cuidadoso da pressão intracraniana elevada (Maziarz; Perfect, 2016). Várias manifestações visuais causadas pela infecção ocular do *C. neoformans* foram registradas, abrangendo distúrbios generalizados na retina com ou sem inflamação do humor vítreo, potencialmente levando a uma perda duradoura da visão, paralisia dos músculos oculares e aumento do disco óptico (Rex *et al.*, 1993).

## 6.6 Infecção em outros sítios corporais

O acometimento dos ossos pelo criptococo se apresenta frequentemente como lesões osteolíticas distintas que podem afetar os ossos de qualquer região do corpo, sendo as vértebras os ossos mais comumente afetados (Liu, 1998). Em indivíduos severamente imunodeprimidos pode haver o acometimento da medula óssea pelo fungo (Albert-Braun *et al.*, 2005). A infecção fúngica da membrana peritoneal e a detecção de criptococo na urina também foram registradas em diversas investigações de casos. O reconhecimento das diferentes manifestações clínicas deste fungo é de extrema importância, tanto no momento do diagnóstico inicial quanto durante o

tratamento (Maziarz; Perfect, 2016).

## 7 DIAGNÓSTICO

A determinação definitiva da presença de criptococose é estabelecida pelo isolamento do criptococo em uma amostra clínica ou pela identificação direta do fungo por meio da aplicação da coloração da tinta nanquim em fluidos corporais. Diversos outros procedimentos são utilizados para a identificação da criptococose, tais como a avaliação histopatológica de tecidos afetados e técnicas sorológicas. Apesar de haver disponibilidade e uso de métodos moleculares para fins de pesquisa, atualmente, essas técnicas não são empregadas na rotina clínica (Maziarz; Perfect, 2016).

Apesar das modalidades diagnósticas não serem diferentes para pacientes HIV positivos e HIV negativos, existem disparidades relatadas na sensibilidade dos testes diagnósticos entre esses grupos e que podem estar associadas à gravidade da doença. Por exemplo, a coloração com tinta nanquim no LCR para detecção de leveduras encapsuladas apresenta uma sensibilidade de 30 a 50% em indivíduos não portadores do HIV, enquanto em pacientes com HIV, sua sensibilidade aumenta para 80% (O'halloran; Powderly; Spec, 2017).

### 7.1 Exame direto

O método mais ágil para diagnosticar meningite criptocócica implica na pesquisa de leveduras encapsuladas por meio da análise microscópica do LCR com tinta nanquim. O criptococo pode ser identificado como uma célula de levedura que possui cápsula, formato globular, com ou sem brotamento e dimensões variando de 5 a 20  $\mu\text{m}$  de diâmetro. A eficácia da coloração com tinta nanquim no LCR depende da carga fúngica do paciente e é relatada como oscilando entre 30% e 50% em casos de meningite criptocócica não associada à AIDS, podendo chegar a até 80% em casos relacionados à AIDS. É relevante destacar que resultados falso-positivos podem decorrer da presença de linfócitos íntegros, outras células de tecido e formas não viáveis de levedura (Diamond; Bennett, 1974).

## 7.2 Cultura

O criptococo pode ser cultivado a partir de amostras biológicas como LCR, escarro e biópsia de pele, em meios de cultura padrão para fungos e bactérias. Normalmente, após 48 a 72 horas de incubação a 30°C até 35°C em condições aeróbicas, as colônias se desenvolvem em placas de ágar sólido, exibindo uma aparência opaca, variando de branco a creme, podendo assumir tonalidades alaranjadas-alaranjadas ou marrons após um período prolongado de incubação. Devido à produção de cápsula, que pode estar aumentada ou não, as colônias podem apresentar um aspecto cremoso. Apesar do crescimento relativamente rápido da maioria das cepas, é recomendável incubar as culturas por até 4 semanas, especialmente quando os pacientes estão sob tratamento antifúngico (Maziarz; Perfect, 2016).

## 7.3 Histopatologia

O criptococo pode ser identificado por meio de coloração histopatológica de tecidos provenientes dos pulmões, pele, medula óssea, cérebro e outros órgãos afetados (Shibuya *et al.*, 2001). A aplicação de tinturas histopatológicas e a análise citológica do sedimento de LCR centrifugado e de outros fluidos corporais demonstram ser mais sensíveis do que o procedimento de coloração com tinta nanquim (Maziarz; Perfect, 2016).

O fungo se manifesta como uma levedura que se reproduz através de brotamento com base estreita. A levedura é mais eficazmente identificada por meio de corantes especiais que realçam a cápsula de polissacarídeo, incluindo mucicarmina, ácido periódico de Schiff e corantes azuis de Alcian (Casadevall; Perfect, 1998).

A coloração de Fontana-Masson detecta a presença de melanina na parede celular da levedura. Outros corantes fúngicos, como o Calcofluor, que se adere à quitina fúngica, ou a prata metenamina de Gomori, que colore a parede celular do fungo, também são empregados para identificar o criptococo em amostras clínicas (Casadevall; Perfect, 1998).

## 7.4 sorologia

O diagnóstico de criptococose na sorologia é realizado pela pesquisa de antígeno capsular de polissacarídeo criptocócico (CrAg). Técnicas de aglutinação de látex e ensaio imunoenzimático são comumente utilizados em amostras tanto de soro quanto LCR, apresentando sensibilidades e especificidades gerais, respectivamente, de 93% a 100% e 93% a 98% (Tanner *et al.*, 1994).

O teste de aglutinação de látex pode apresentar resultados falso-positivos e falso-negativos. Os resultados falso-positivos estão geralmente associados com a carga antigênica inicial baixa, já os falso-negativos se dão devido a cargas antigênicas extremamente elevadas, podendo ser corrigida com diluição (TANNER *et al.*, 1994).

Uma quantidade reduzida de fungos, como em situações de meningite crônica de intensidade leve ou no estágio extremamente inicial de uma infecção, assim como a má preservação da amostra também têm o potencial de induzir resultados falso-negativos nos exames de aglutinação de látex (Bloomfield; Gordon; Elmendorf, 1963).

## 7.5 importância do diagnóstico precoce

A epidemiologia e o prognóstico clínico da doença são fatores que podem sofrer alterações dependendo da localização geográfica e do estado imunológico do paciente. *C. neoformans* está fortemente associado à infecção em pacientes imunodeprimidos, incluindo hospedeiros portadores do HIV. Em contrapartida, uma preocupação emergente é se a alta morbidade observada pode ser consequência de um atraso no diagnóstico devido a uma suspeita clínica reduzida (Aye *et al.*, 2016)

No estudo de Aye *et al.* (2016), foram abordados casos de infecção por criptococo diagnosticados em região australiana e foram exploradas características epidemiológicas para determinar a relação entre o atraso no diagnóstico e déficits neurológicos prolongados. Durante a pesquisa foram identificados um total de 29 casos de criptococose, onde 27 apresentaram resultados positivos para *C. neoformans* em análises de cultura, enquanto dois tiveram resultados negativos nesse método. Entretanto, os casos com resultados negativos em cultura foram confirmados por meio de testes de sorologia, que foram respaldados por evidências clínicas e radiológicas da doença. Os casos não relacionados ao pulmão ou ao SNC englobam

situações como fungemia de causa desconhecida, infecção laríngea por criptococo. O intervalo médio entre o surgimento dos primeiros sintomas e o diagnóstico foi de 39 dias, variando de 16 a 75 dias, enquanto o intervalo médio entre a apresentação inicial e o diagnóstico foi de 9 dias, variando de 4 a 13 dias. Dezesete pacientes receberam o diagnóstico de doença por criptococo após 30 dias ou mais desde o surgimento do primeiro sintoma, enquanto os outros 12 pacientes foram diagnosticados nos primeiros 29 dias após o início dos sintomas.

De acordo com o que foi descrito no trabalho de Aye *et al.* (2016), o início do tratamento adequado ocorreu dentro de 24 horas após o diagnóstico na maioria dos casos e outros iniciaram o tratamento em até 72 horas após o diagnóstico. A taxa geral de mortalidade foi de 10,3%. Entre os pacientes com comprometimento do SNC, 45% manifestaram déficits neurológicos de longo prazo. Foram observadas diferenças significativas entre os grupos com e sem déficits neurológicos de longo prazo, levando à conclusão de que o diagnóstico tardio está intimamente relacionado com maiores sequelas neurológicas.

## 8 TRATAMENTO

O tratamento utilizado para as infecções causadas pela levedura, apesar de apresentarem variações conforme a gravidade, localização da infecção, distinção entre idade do paciente, comprometimento imunológico e outros parâmetros, é baseado no uso dos antifúngicos comuns Fluconazol (FLU), Flucitosina (FCT) e Anfotericina B (ANB) (Maziarz; Perfect, 2016).

De acordo com as diretrizes para o tratamento da criptococose por Perfect *et al.* (2010) o tratamento para pacientes não infectados por HIV e hospedeiros que não receberam transplante de órgãos, porém portadores da meningoencefalite criptocócica, consiste na administração primeiramente de ANB (0,7–1,0 mg/kg por dia intravenoso) mais FCT (100 mg/kg por dia via oral em 4 doses divididas) por pelo menos 4 semanas para terapia de indução. A terapia de indução de 4 semanas é reservada para pessoas com meningoencefalite sem complicações neurológicas e resultados negativos na cultura de levedura do líquido cefalorraquidiano (LCR) após 2 semanas de tratamento. Em casos de problemas de toxicidade com o ANB, formulações lipídicas de ANB podem ser usadas nas últimas 2 semanas. Em pacientes

com complicações neurológicas, considere a extensão da terapia de indução por um total de 6 semanas, e o LFAmB pode ser administrado nas últimas 4 semanas do período de indução prolongado. Em seguida, inicie a consolidação com fluconazol (400 mg por dia) por 8 semanas.

Em pacientes com baixo risco de falha terapêutica, ou seja, que possuem um diagnóstico precoce pela história clínica, não possuem doenças não controladas ou estado imunocomprometido, e apresentam excelente resposta clínica ao tratamento inicial de duas semanas com combinação de antifúngicos, a terapia de indução com a combinação de ANB e FCT por apenas 2 semanas, seguida de uma fase de consolidação com fluconazol (800 mg [12 mg/kg] por dia via oral) por 8 semanas deve ser considerada. Após a terapia de indução e consolidação, continua-se o tratamento com a terapia de manutenção usando FLU (200 mg [3 mg/kg] por dia via oral) por 6 a 12 meses (Perfect *et al.*, 2010).

A capacidade do *C. neoformans* de ser afetado por esses tratamentos tem se reduzido e variado dependendo das condições do ambiente e do perfil de expressão das células do fungo. A alteração na expressão dos fatores de virulência pode ter impacto tanto na dinâmica entre o hospedeiro e o patógeno quanto sua sensibilidade aos antifúngicos e na resposta imune do hospedeiro, tornando a compreensão da modulação dos fatores de virulência apresentados pelo criptococo um ponto essencial para a escolha e estudo de tratamentos antifúngicos mais eficazes (Momin; Webb, 2021).

Os antifúngicos utilizados para o tratamento possuem diferentes mecanismos de ação. O estudo de Anderson *et al.* (2014) demonstra que a ANB exerce suas propriedades antifúngicas ao extrair ergosterol da membrana fúngica, eliminando um lipídio essencial da membrana. O FLU atinge o seu efeito antifúngico inibindo a síntese do ergosterol, particularmente inibindo a enzima codificada pelo ERG11. A falta de ergosterol combinada com a presença de um esteroide tóxico na membrana fúngica resulta em crescimento celular limitado (Perfect *et al.*, 2010). A FCT tem um mecanismo de ação diferente pois atua mimetizando a citosina na célula, resultando na inibição da síntese de DNA e RNA (Vermes *et al.*, 2000).

## 8.1 Papel do Ambiente e dos Fatores de Virulência na Resistência a Antifúngicos

### 8.1.1 Melanina

Segundo o estudo conduzido por Wang e Casadevall (1994), células fúngicas cultivadas em L-dopa, que induz a melanogênese, eram mais resistentes à ANB em relação a células que possuíam menor quantidade de melanina. Esse achado foi posteriormente comprovado no estudo realizado por Van Duin, Casadevall e Nosanchuk (2002) que, por meio de ensaios de eliminação, obtiveram o resultado de menor eliminação das células melanizadas tratadas com ANB em comparação com as células não melanizadas. Além desses resultados, os autores também descobriram que o ANB se liga à melanina.

A ligação do ANB à melanina pode fazer com que uma diminuição de efeitos imunomoduladores ocorra, tanto da ANB quanto da melanina, levando a um aumento na sobrevivência do criptococo (Perfect *et al.*, 2010).

### 8.1.2 Dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>)

Um dos importantes parâmetros a serem avaliados na sua relação com a virulência do *C. neoformans* e sua resistência a antifúngicos é o CO<sub>2</sub>, uma vez que a concentração atmosférica do dióxido de carbono se encontra por volta de 0,04%, mas muda drasticamente nos tecidos de mamíferos, aumentando para entorno de 5% (Krysan *et al.*, 2019).

O aumento de CO<sub>2</sub> induz a formação da cápsula, inibe o acasalamento e retarda o crescimento celular fúngico, além disso, o CO<sub>2</sub> pode afetar a fluidez da membrana, bem como inibir indispensáveis reações de síntese. Estes podem ser possíveis mecanismos da atividade antifúngica do CO<sub>2</sub>. Outro mecanismo potencial é a perturbação dos fatores de virulência do *C. neoformans* relacionados com as susceptibilidades antifúngicas (Perfect *et al.*, 2010).

### 8.1.3 Cápsula

Vitale, Pascuccelli e Afeltra (2012) salientaram uma relação entre a sensibilidade a antifúngicos e a dimensão da cápsula do criptococo. Quando as

células do fungo foram cultivadas em condições que induzem a formação da cápsula, a Concentração Inibitória Mínima (CIM) resultante do dos medicamentos FLU, ANB e FCT aumentou. Tal achado sugere que o aumento na cápsula tem por consequência a diminuição na susceptibilidade da célula aos antifúngicos.

Em áreas específicas do organismo, como no líquido cefalorraquidiano (LCR), os antifúngicos podem ter a sua eficácia reduzida, o que se deve ao fato de que o fungo apresenta indução da produção de sua cápsula em determinados tecidos (Perfect *et al.*, 2010).

De modo a demonstrar a relação entre o suprimento de nutrientes, a formação capsular e a suscetibilidade a ação de antifúngicos, o estudo realizado por Bosch *et al.* (2020) constatou que a menor biodisponibilidade de nitrogênio para o crescimento do fungo teve por resultado uma maior produção de cápsula e conseqüentemente menor sensibilidade aos medicamentos ANB e FLU.

As células cultivadas em um ambiente de nitrogênio escasso YNB demonstraram maior capacidade de sobrevivência quando expostas ao medicamento em comparação com as células cultivadas em um ambiente de nitrogênio abundante YCB. Essa diminuição na sensibilidade foi evidente em todas as dosagens de AmB e FLU após 2 e 5 horas, respectivamente. As culturas com escassez de nitrogênio exibiram as taxas de sobrevivência mais elevadas, mantendo-se mesmo após 24 horas (Bosch *et al.*, 2020).

#### 8.1.4 Proteína Antifagocítica (App1)

A App1 é uma proteína produzida pela levedura secretada no meio extracelular e encontrada no soro de pacientes infectados. Os macrófagos presentes nos alvéolos possuem função indispensável na resposta imunológica contra o criptococo, uma vez que a infecção se dá pela inalação do fungo presente no ambiente. (Perfect *et al.*, 2010). Foi revelado que o App1 bloqueia a fagocitose por meio de um mecanismo que envolve o complemento, particularmente por aderir ao receptor de complemento 3 (Stano *et al.*, 2009).

App1 é outro mecanismo de virulência que possui impacto na resposta a medicamentos antifúngicos. Cepas com maior presença de App1 apresentam redução na viabilidade celular exposto ao ANB e ao FLU, diferentemente de cepas sem a

produção elevada de App1, que apresentam taxa de sobrevivência elevada (Ghaffar; Orr; Webb, 2019).

A expressão do App1 é controlada pelo ambiente, especificamente, o App1 é aumentado quando o *C. neoformans* é exposto à falta de glicose, a uma concentração de 5% de CO<sub>2</sub> e a uma temperatura de 37°C. O impacto do CO<sub>2</sub> é curioso, uma vez que seria esperado que em ambientes com 5% de CO<sub>2</sub>, tanto o App1 quanto a produção de cápsula fossem intensificados (Williams; Poeta, 2011).

Tendo em vista que o ambiente pulmonar de mamíferos apresenta condições de crescimento com alta concentração de CO<sub>2</sub> (5%) e baixa glicose (Williams; Poeta, 2011), deve-se ressaltar a importância clínica da descrição da suscetibilidade do criptococo à antifúngicos em diferentes condições do ambiente, uma vez que o pulmão desempenha uma função crucial na contenção da doença causada pelo criptococo, sendo relevante para o desfecho da doença (Perfect *et al.*, 2010).

### 8.1.5 Temperatura

O trabalho realizado por Carlson *et al.* (2021) demonstra que a temperatura e a disponibilidade de nutrientes afetam diretamente a suscetibilidade do *C. neoformans* aos antifúngicos ANB e FCT. Para o desenvolvimento do estudo cepas do *C. neoformans* var. *Grubii* foram incubadas em meios ricos em nutrientes YPD e meios com depleção de nutrientes YNB em temperaturas que variavam de 25 a 39°C por 72 horas. A temperatura e a sensibilidade à medicamentos estão intimamente relacionadas uma vez que, quando incubados em temperaturas maiores como 35°C, 37°C e 39°C, uma diminuição na CIM das drogas ANB e FCT foi obtida, evidenciando maior sensibilidade fúngica tanto em meio YPD quanto YNB.

## 8.2 Mecanismos que Levam à Resistência Antifúngica

Mecanismos típicos de resistência compreendem sistemas de remoção de substâncias e alterações na expressão de genes alvo de antifúngicos azóis (Chang *et al.*, 2018). A expressão dos genes AFR1, que é um transportador ABC responsável pelo efluxo de FLU (Chang *et al.*, 2018), e ERG11, que produz a enzima que se torna o alvo dos antifúngicos azóis (Yang *et al.*, 2015), está intimamente relacionada com o

potencial de resistência ao tratamento (Perfect *et al.*, 2010).

Além dos mecanismos inatos ao fungo, um mecanismo que chama atenção ao modular a resistência ao tratamento é a própria presença dos antifúngicos. Diversos genes do *C. neoformans* são estimulados a sofrerem um aumento ou até mesmo uma diminuição em sua expressão na presença de FLU (Florio *et al.*, 2011). Entre os genes que apresentam um aumento em sua expressão na presença de FLU está o AFR1, causando um aumento no efluxo de medicamento da célula e consequente diminuição da eficácia da droga (Chang *et al.*, 2018).

## 9 CONCLUSÃO

O fungo *C. neoformans* é um causador reconhecido de meningoencefalite fúngica, afetando principalmente indivíduos imunossuprimidos, como portadores de HIV/AIDS e indivíduos com comorbidades como portadores de transplante de órgãos. Vários fatores de virulência, como a formação de cápsula e secreção de melanina, permitem que a levedura sobreviva e se multiplique nas células hospedeiras como os macrófagos. Devido a mecanismos que suportem a adaptação do fungo ao meio em que ele se encontra, a susceptibilidade a antifúngicos diminuiu e consequentemente, sua patogenicidade, que é influenciada por fatores ambientais, tornou-se mais relevante.

Há uma complexa interação entre condições ambientais, fatores de virulência e suscetibilidade a antifúngicos que impactam a resposta ao tratamento. As alterações no ambiente natural do *C. neoformans* afetam sua virulência e podem influenciar os desfechos clínicos. Diagnósticos de enfermidades, como a meningite criptocócica, são desafiadores e frequentemente requerem avaliação minuciosa. A detecção precoce do patógeno é crucial, especialmente considerando a alta taxa de mortalidade associada. No entanto, com métodos de diagnóstico apropriados e uma abordagem eficaz de tratamento, podem-se alcançar resultados terapêuticos positivos. Para isso a escolha de medicamentos antifúngicos deve ser individualizada, considerando o estado imunológico e as características específicas da doença de cada paciente.

## REFERÊNCIAS

- ALBERT-BRAUN, S. *et al.* Cryptococcus neoformans peritonitis in a patient with alcoholic cirrhosis: case report and review of the literature. **Infection**, v. 33, p. 282-288, 2005.
- ALLEN, R. *et al.* Disseminated cryptococcosis after transurethral resection of the prostate. **Australian and New Zealand Journal of Medicine**, v. 12, p. 296-299, 1982.
- ALSPAUGH, J. Andrew. Virulence Mechanisms and Cryptococcus neoformans pathogenesis. **Fungal Genetics and Biology**, v. 78, p. 55-58, maio 2015.
- ANDERSON, T.M. *et al.* Amphotericin forms an extramembranous and fungicidal sterol sponge. **Nature Chemical Biology**, v. 10, p. 400-406, 2014.
- AYE, C. *et al.* Cryptococcosis: the impact of delay to diagnosis. **Clinical Microbiology and Infection**, 10 maio 2016.
- BAHN, Y. S; SUN, S; HEITMAN, J; LIN, X. Microbe Profile: *Cryptococcus neoformans* species complex. **Microbiology**, v. 166, n. 9, p. 797-799, 2020.
- BAKER, L. G.; SPECHT, C. A.; DONLIN, M. J.; LODGE, J. K. Chitosan, a deacetylated derivative of chitin, is essential for maintaining cell wall integrity in *Cryptococcus neoformans*. **Eukaryotic Cell**, v. 6, p. 855–867 2007.
- BLOOMFIELD, N.; GORDON, M. A.; ELMENDORF, D. F. Detection of *Cryptococcus neoformans* antigen in body fluids by latex particle agglutination. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 114, p. 64-67, 1963.
- BOSCH, C. *et al.* Nitrogen concentration affects amphotericin B and fluconazole tolerance of pathogenic cryptococci. **FEMS Yeast Research**, v. 20, n. 2, março 2020.
- BOSE, I.; REESE, AJ.; ORY, JJ.; JANBON, G.; DOERING, TL. A yeast under cover: the capsule of *Cryptococcus neoformans*. **Eukaryot Cell**, v. 2, p. 655–663, 2003.
- BOVERS, M. *et al.* Unique hybrids between the fungal pathogens *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. **FEMS Yeast Research**, v. 6, p. 599-607, 2006.
- BOYCE, K. J.; ANDRIANOPOULOS, A. Fungal dimorphism: the switch from hyphae to yeast is a specialized morphogenetic adaptation allowing colonization of a host. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 39, p. 797-811, 2015.
- CARLSON, T.; LUPINACCI, E.; MOSELEY, K.; CHANDRASEKARAN, S. Effects of environmental factors on sensitivity of *Cryptococcus neoformans* to fluconazole and amphotericin B. **FEMS Microbiol Lett**, v. 368, n. 7, p. 1-7, 2021.
- CASADEVALL, A. *et al.* The capsule of *Cryptococcus neoformans*. **Virulence**, v. 10,

p. 822831, 2019.

CASADEVALL, A.; PERFECT, J. R. *Cryptococcus neoformans*. Washington, DC: **ASM Press**, 1998.

CHAN, D. C. Mitochondrial fusion and fission in mammals. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 22, p. 79-99, 2006.

CHANG, M. *et al.* Roles of Three *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* Efflux Pump-Coding Genes in Response to Drug Treatment. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 62, n. 2, e01751-17, 2018.

CHEN, H. *et al.* Mitofusins Mfn1 and Mfn2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development. **Journal of Cell Biology**, v. 160, p. 189-200, 2003.

CHEN, S. C.; MEYER, W.; SORRELL, T. C. *Cryptococcus gattii* infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 27, n. 4, p. 980-1024, out. 2014.

CHRISTIANSON, J.; ENGBER, W.; ANDES, D. Primary cutaneous cryptococcosis in immunocompetent and immunocompromised hosts. **Medical Mycology**, v. 41, n. 3, p. 177-188, 2003.

COELHO, C.; BOCCA, A. L.; CASADEVALL, A. The intracellular life of *Cryptococcus neoformans*. **Annu. Rev. Pathol.**, v. 9, p. 219-238, 2014.

COSSART, P.; SANSONETTI, P.J. Bacterial invasion: The paradigms of enteroinvasive pathogens. **Science**, v. 304, p. 242-245, 2004.

DIAMOND, R. D.; BENNETT, J. E. Prognostic factors in cryptococcal meningitis: A study in 111 cases. **Annals of Internal Medicine**, v. 80, p. 176-181, 1974.

FADOK, V. A. Clearance: the last and often forgotten stage of apoptosis. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 4, p. 203-211, 1999.

FAN, W. *et al.* *Cryptococcus neoformans* gene expression during murine macrophage infection. **Eukaryotic Cell**, v. 4, p. 1420-1433, 2005.

FIRACATIVE, Carolina; MEYER, Wieland; CASTAÑEDA, Elizabeth. *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* Species Complexes in Latin America: A Map of Molecular Types, Genotypic Diversity, and Antifungal Susceptibility as Reported by the Latin American Cryptococcal Study Group. **J. Fungi**, v. 7, n. 4, artigo 282, 2021.

FLORIO, A. R. *et al.* Genome-wide expression profiling of the response to short-term exposure to fluconazole in *Cryptococcus neoformans* serotype A. **BMC Microbiol**, v. 11, p.97, 2011.

FRASER, J. *et al.* Evolution of the mating-type region: the basidiomycetes. In: HEITMAN, J. *et al.* (Eds.) *Sex in Fungi: Molecular Determination and Evolutionary Implications*. Washington, DC: ASM, p. 19-34, 2006.

FU, M. S. *et al.* Cryptococcus neoformans urease affects the outcome of intracellular pathogenesis by modulating phagolysosomal pH. **PLoS Pathogens**, v. 14, 2018.

GANENDREN, R. *et al.* Phospholipase B activity enhances adhesion of Cryptococcus neoformans to a human lung epithelial cell line. **Microbes and Infection**, v. 8, n. 4, p. 10061015, 2006.

GHAFFAR, M.; ORR, C.; WEBB, G. Antiphagocytic protein 1 increases the susceptibility of Cryptococcus neoformans to amphotericin B and fluconazole. **PLoS One**, v. 14, n. 12, e0225701, 2019.

GREENBERG, S.; GRINSTEIN, S. Phagocytosis and innate immunity. **Current Opinion in Immunology**, v. 14, p. 136-145, 2002.

HAGEN, F. *et al.* Recognition of seven species in the Cryptococcus gattii/Cryptococcus neoformans species complex. **Fungal Genetics and Biology**, v. 78, p. 16-48, 2015.

HANSONG, M. *et al.* The fatal fungal outbreak on Vancouver Island is characterized by enhanced intracellular parasitism driven by mitochondrial regulation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)**, v. 106, n. 31, p. 12980-12985, 2009.

HEITMAN, J. *et al.* Preface. In: Sex in Fungi: Molecular Determination and Evolutionary Implications. Washington, DC: ASM, 2007, pp. xv-xvii.

HEITMAN, J. Evolution of sexual reproduction: a view from the fungal kingdom supports an evolutionary epoch with sex before sexes. **Fungal Biology Reviews**, v. 29, p. 108-117, 2015.

HEITMAN, J. Sexual reproduction and virulence of Cryptococcus. **Mycoses**, v. 55, p. 22, 2012.

HILL, Z.H. The function of melanin or six blind people examine an elephant. **Bioessays**, v. 14, p. 49-56, 1992.

HUANG SH, JONG AY. Cellular mechanisms of microbial proteins contributing to invasion of the blood-brain barrier. **Cell Microbiol**, v. 5, p. 277-287, 2001.

JONG, A. *et al.* Identification and characterization of CPS1 as a hyaluronic acid synthase contributing to the pathogenesis of Cryptococcus neoformans infection. **Eukaryotic Cell**, v. 6, p. 1486-1496, 2007.

JONG, A. *et al.* Invasion of Cryptococcus neoformans into human brain microvascular endothelial cells requires protein kinase C activation. **Cellular Microbiology**, v. 10, p. 1854-1865, 2008.

KARBOWSKI, M. *et al.* Quantitation of mitochondrial dynamics by photolabeling of individual organelles shows that mitochondrial fusion is blocked during the Bax

activation phase of apoptosis. **Journal of Cell Biology**, v. 164, p. 493-499, 2004.

KOZEL, T. R. *et al.* Urease as a Virulence Factor in Experimental Cryptococcosis. **Infection and Immunity**, v. 68, p. 443-448, 2000.

KOZUBOWSKI, L.; HEITMAN, J. Profiling a killer, the development of *Cryptococcus neoformans*. **FEMS Microbiol. Rev.**, 2012.

KRYSAN, D.J. *et al.* Host Carbon Dioxide Concentration Is an Independent Stress for *Cryptococcus neoformans* That Affects Virulence and Antifungal Susceptibility. **mBio**, v. 10, e01410-19, 2019.

KWON-CHUNG, K. J.; BOEKHOUT, T.; FELL, J. W.; DIAZ, M. (1557) Proposal to Conserve the Name *Cryptococcus gattii* against *C. hondurianus* and *C. bacillisporus* (Basidiomycota, Hymenomycetes, Tremellomycetidae). **Taxon**, v. 51, n. 4, p. 804–806, 2002.

LARSEN, R. A. *et al.* Persistent *Cryptococcus neoformans* infection of the prostate after successful treatment of meningitis. California Collaborative Treatment Group. **Annals of Internal Medicine**, v. 111, p. 125-128, 1989.

LIN, J.; IDNURM, A.; LIN, X. Morphology and its underlying genetic regulation impact the interaction between *Cryptococcus neoformans* and its hosts. **Medical Mycology**, v. 53, p. 493-504, 2015.

LIN, X.; ALSPAUGH, J. A.; LIU, H.; HARRIS, S. Fungal morphogenesis. **CSH Perspect. Med.**, 2015.

LIU, P. Y. Cryptococcal osteomyelitis: case report and review. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 30, n. 1, p. 33-35, 1998.

LUBERTO, C. *et al.* Identification of App1 as a regulator of phagocytosis and virulence of *Cryptococcus neoformans*. **Journal of Clinical Investigation**, v. 112, p. 1080-1094, 2003.

MA, H.; CROUDACE, J. E.; LAMMAS, D. A.; MAY, R. C. Expulsion of Live Pathogenic Yeast by Macrophages. **Current Biology**, v. 16, p. 2156-2160, 2006.

MARTINS, Liliane Maria Soares *et al.* Genotypes of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* as agents of endemic cryptococcosis in Teresina, Piauí (northeastern Brazil). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 106, n. 6, p. 725-730, setembro 2011.

MAZIARZ, E.K.; PERFECT, J.R. Cryptococcosis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 30, n. 1, p. 179-206, mar. 2016.

MCFADDEN, D. C. *et al.* Capsule structural heterogeneity and antigenic variation in *Cryptococcus neoformans*. **Eukaryotic Cell**, v. 6, p. 1464-1473, 2007.

MERKEL, G. J.; CUNNINGHAM, R. K. The interaction of *Cryptococcus neoformans*

with primary rat lung cell cultures. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, v. 30, p. 115121, 1992.

MEYER, W. *et al.* Consensus multi-locus sequence typing scheme for *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. **Medical Mycology**, v. 47, n. 6, p. 561-570, set. 2009.

MEYER, W. *et al.* Molecular typing of Ibero-American *Cryptococcus neoformans* isolates. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, p. 189-195, 2003.

MEYER, W.; MITCHELL, T. G. Polymerase chain reaction fingerprinting in fungi using single primers specific to minisatellites and simple repetitive DNA sequences: strain variation in *Cryptococcus neoformans*. **Electrophoresis**, v. 16, p. 1648-1656, 1995.

MOMIN, M.; WEBB, G. The Environmental Effects on Virulence Factors and the Antifungal Susceptibility of *Cryptococcus neoformans*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 12, p. 6302, 2021.

NASCIMENTO, Erika *et al.* Cryptococcosis by *Cryptococcus neoformans/Cryptococcus gattii* Species Complexes in non-HIV-Infected Patients in Southeastern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine)**, v. 54, e0169-2021, 2021.

NEOFYTOS, D. *et al.* Epidemiology and outcome of invasive fungal infections in solid organ transplant recipients. **Transplant Infectious Disease**, v. 12, n. 3, p. 220-229, 2010.

NI M.; FERETZAKI M.; SUN S.; WANG XY.; HEITMAN J. Sex in fungi. **Annu. Rev. Genet**, v. 45, p. 405–30, 2011.

NOSANCHUK, J.D.; ROSAS, A.L.; CASADEVALL, A. The antibody response to fungal melanin in mice. **J Immunol**, v. 160, p. 6026–6031, 1998.

NOSANCHUK, J. D.; CASADEVALL, A. The contribution of melanin to microbial pathogenesis. **Cellular Microbiology**, v. 5, p. 203-223, 2003.

O'HALLORAN, J. A.; POWDERLY, W. G.; SPEC, A. Cryptococcosis today: It is not all about HIV infection. **Current Clinical Microbiology Reports**, v. 4, n. 2, p. 88-95, junho de 2017.

O'MEARA, T. R.; ALSPAUGH, J. A. The *Cryptococcus neoformans* Capsule: a Sword and a Shield. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 25, n. 3, p. 387-408, 2012.

PARK, B. J. *et al.* Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. **AIDS**, v. 23, p. 525-530, 2009.

PERFECT, J. R.; CASADEVALL A. Cryptococcosis. **Infect Dis Clin**, v.16, n. 4, p. 837-874, 2002.

PERFECT, J. R. *et al.* Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.*, v. 50, p. 291-322, 2010.

REESE AJ, DOERING TL. Cell wall alpha-1,3-glucan is required to anchor the *Cryptococcus neoformans* capsule. ***Mol Microbiol***, v. 50, p. 1401–1409, 2003.

REX, J. H. *et al.* Catastrophic visual loss due to *Cryptococcus neoformans* meningitis. ***Medicine (Baltimore)***, v. 72, p. 207-224, 1993.

RODRIGUES, M. L. *et al.* Extracellular vesicles produced by *Cryptococcus neoformans* contain protein components associated with virulence. ***Eukaryotic Cell***, v. 7, p. 58-67, 2008.

ROSAS, A. L.; NOSANCHUK, J. D.; FELDMESSER, M.; COX, G. M.; MCDADE, H. C.; CASADEVALL, A. Synthesis of melanin by *Cryptococcus neoformans* in infected rodents. ***Infect Immun***, v.68, p. 2845–2853, 2000.

RUMA, P.; CHEN, S. C.; SORRELL, T. C.; BROWNLEE, A. G. Caracterização de *Cryptococcus neoformans* por amplificação aleatória de DNA. ***Letters in Applied Microbiology***, v. 23, p. 312-316, 1996.

SANTANGELO, R. *et al.* Role of extracellular phospholipases and mononuclear phagocytes in dissemination of cryptococcosis in a murine model. ***Infection and Immunity***, v. 72, p. 2229-2239, 2004.

SHIBUYA, K. *et al.* Histopathology of cryptococcosis and other fungal infections in patients with acquired immunodeficiency syndrome. ***International Journal of Infectious Diseases***, v. 5, p. 78-85, 2001.

SINGH, A. *et al.* Factors required for activation of urease as a virulence determinant in *Cryptococcus neoformans*. ***mBio***, v. 4, 2013.

SINGH, N. *et al.* Clinical spectrum of invasive cryptococcosis in liver transplant recipients receiving tacrolimus. ***Clinical Transplantation***, v. 11, p. 66-70, 1997.

SINGH, N. Fungal infections in the recipients of solid organ transplantation. ***Infectious Disease Clinics of North America***, v. 17, n. 1, p. 113-134, 2003.

STANO, P. *et al.* App1: An antiphagocytic protein that binds to complement receptors 3 and 2. ***Journal of Immunology***, v. 182, p. 84-91, 2009.

TANNER, D. C. *et al.* Comparison of commercial kits for detection of cryptococcal antigen. ***Journal of Clinical Microbiology***, v. 32, p. 1680-1684, 1994.

VAN DE WETERING, J. K. *et al.* Aggregation of *Cryptococcus neoformans* by surfactant protein D is inhibited by its capsular component glucuronoxylomannan. ***Infection and Immunity***, v. 72, p. 145-153, 2004.

VAN DUIN, D.; CASADEVALL, A.; NOSANCHUK, J.D. Melanization of *Cryptococcus*

neoformans and *Histoplasma capsulatum* reduces their susceptibilities to amphotericin B and caspofungin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, p. 3394-3400, 2002.

VARTIVARIAN, S. E. *et al.* Regulation of cryptococcal capsular polysaccharide by iron. **Journal of Infectious Diseases**, v. 167, p. 186-190, 1993.

VECCHIARELLI, A. *et al.* The polysaccharide capsule of *Cryptococcus neoformans* interferes with human dendritic cell maturation and activation. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 74, p. 370-378, 2003.

VELAGAPUDI, R. *et al.* Spores as infectious propagules of *Cryptococcus neoformans*. **Infection and Immunity**, v. 77, p. 4345-4355, 2009.

VERMES, A.; GUCHELAAR, H.J.; DANKERT, J. Flucytosine: A review of its pharmacology, clinical indications, pharmacokinetics, toxicity and drug interactions. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 46, p. 171-179, 2000.

VITALE, R.G.; PASCUCCELLI, V.; AFELTRA, J. Influence of capsule size on the in vitro activity of antifungal agents against clinical *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* strains. **Journal of Medical Microbiology**, v. 61, p. 384-388, 2012.

WANG, K. *et al.* Clinical symptoms and signs for the diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* in children and adolescents with community-acquired pneumonia. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 10, 2012.

WANG, L.; LIN, X. The morphotype heterogeneity in *Cryptococcus neoformans*. **Curr. Opin. Microbiol.**, v. 26, p. 60-64, 2015.

WANG, Y.; CASADEVALL, A. Growth of *Cryptococcus neoformans* in presence of L-dopa decreases its susceptibility to amphotericin B. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 38, p. 2648-2650, 1994.

WARR, W.; BATES, J. H.; STONE, A. The spectrum of pulmonary cryptococcosis. **Annals of Internal Medicine**, v. 69, p. 1109-1116, 1968.

WILLIAMS, V.; POETA, M. Role of glucose in the expression of *Cryptococcus neoformans* antiphagocytic protein 1, APP1. **Eukaryotic Cell**, v. 10, p. 293-301, 2011.

YANG, M.L. *et al.* Fluconazole Susceptibility in *Cryptococcus gattii* Is Dependent on the ABC Transporter Pdr11. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 2, p. 1202-1207, 2015.

YONEDA, A.; DOERING, T. L. A eukaryotic capsular polysaccharide is synthesized intracellularly and secreted via exocytosis. **Molecular Biology of the Cell**, v. 17, p. 5131-5140, 2006.

ZARAGOZA, O.; FRIES, B. C.; CASADEVALL, A. Induction of capsule growth in *Cryptococcus neoformans* by mammalian serum and CO<sub>2</sub>. **Infection and Immunity**, v. 71, p. 6155-6164, 2003.

# O USO DE MÉTODOS NÃO CONVENCIONAIS PARA O TRATAMENTO DE INFECÇÕES POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE À METICILINA

## THE USE OF NON CONVENTIONAL TREATMENTS IN INFECTIONS CAUSED BY *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* METHICILLIN RESISTANT

Gloria Carneiro <sup>1</sup>

Ariane Mayumi Saito Bertão <sup>2</sup>

796

### RESUMO

*Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram-positiva já bastante conhecida na área médica, presente na microbiota humana normal. Pode causar infecções de pele como furúnculos até as mais graves como meningite, pneumonia, endocardites e sepse. Ainda que existam vários tratamentos atualmente utilizados, esta bactéria conta com cepas resistentes aos antimicrobianos que podem dificultar o tratamento, sendo assim necessária a aplicação de métodos mais agressivos ou não convencionais, ou os também chamados tratamentos alternativos como, fitoterapia, óleos essenciais, ozonioterapia e mecanismos inibidores de *quorum sensing*. Este trabalho caracterizou-se como uma revisão narrativa da literatura, de caráter descritivo, por meio de pesquisa bibliográfica em sites e plataformas como 'PubMed', 'Google Acadêmico', 'SciELO', entre outros. Após análise dos resultados dos estudos realizados por diferentes pesquisadores, sobre a resistência à meticilina desenvolvida pelo *Staphylococcus aureus* (MRSA) e também sobre os tratamentos não convencionais, como fitoterapia, óleos essenciais, ozonioterapia e mecanismos inibidores de *quorum sensing*, diante do fato de que os antibióticos utilizados começaram a perder eficácia para algumas cepas e que alguns dos métodos alternativos apresentam resultados favoráveis, mais estudos e dados precisos poderiam ser a saída do caminho que a ciência e a indústria farmacêutica têm percorrido por tanto tempo.

**Palavras-chave:** *staphylococcus aureus*; resistência; inibição; óleos essenciais; MRSA.

### ABSTRACT

*Staphylococcus aureus* is a Gram-positive bacteria already known in the medical field, present in the normal human microbiome. It can cause infections such as furuncles, and acne, and dangerous ones like meningitis, pneumonia, endocarditis and sepsis. Even with the existence of many treatments currently used, the bacteria has strains with multiple resistance genes to commonly used antibiotics, a fact that can make treatments difficult, being needed the application of more aggressive methods or non conventional, the called alternative treatments, such as phytotherapy, essential oils, ozone therapy and quorum sensing inhibitory mechanisms. This work is characterized

<sup>1</sup> Gloria Carneiro. Graduanda do Curso de BIOMEDICINA do Centro Universitário Filadélfia - UniFil. gloriacarneiro@edu.unifil.br.

<sup>2</sup> Ariane Mayumi Saito Bertão: Professora Mestre do curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia - UniFil. ariane.bertao@unifil.br.

as a literature review using platforms and websites like 'PubMed', 'Google Scholar' and 'SciELO', among others. After analyzing the results of studies made by different scientists, about bacterial resistance devolved by some *Staphylococcus aureus* strains, and also about non conventional treatments like phytotherapy, essential oils, ozone therapy, and quorum sensing inhibitory mechanisms, with the fact that many antibiotics lost its efficiency towards some strains and many non conventional methods present favorable results, more research and precise data could be the path that science and the pharmaceutical industry have been looking for for so long.

**Keywords:** *staphylococcus aureus*; resistance; inhibition; essential oils; MRSA.

## 1 INTRODUÇÃO

*Staphylococcus aureus*, ou também *S. aureus* é uma bactéria Gram positiva de grande importância clínica, provavelmente uma das mais estudadas pela ciência e com características importantes para a saúde pública (Lima, 2019). Seu primeiro isolamento foi realizado por Ogston e a descrição da espécie por Rosenbach no final do século XIX (Alterthum, 2015). Desde então ao longo dos anos a identificação do *S. aureus* como agente etiológico de infecções em seres humanos e animais é constante e vem crescendo cada vez mais (Torres; Peronico; Kocerginsky, 2017).

A partir dessa data esta bactéria mostrou-se uma grande inimiga da ciência ao desenvolver cepas resistentes ao tratamento com praticamente todos os antibióticos e quimioterápicos. O sequenciamento de vários genomas da mesma mostra plasticidade genômica, ou seja, o gene tem grande capacidade de mudança genética e o DNA é altamente flexível, em espécies e grupos de linhagem com graus variados de resistência e virulência, e que a capacidade de uma espécie de armazenar genes de outras espécies de forma estável é responsável por sua resiliência (Alterthum, 2015).

Com a alta capacidade de desenvolver resistência, o *S. aureus* desenvolveu diversas cepas diferentes (Santos *et al.*, 2007), resistentes aos mais diversos antibióticos, visto isso, o objetivo deste trabalho em específico será discutir o *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA, do inglês *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*) e os tratamentos não convencionais que podem vir a ser utilizados devido a ineficácia dos tratamentos convencionais funcionarem contra estas cepas resistentes, por isso a descoberta de tratamentos novos é essencial.

A metodologia utilizada neste trabalho caracteriza-se como um estudo de

abordagem qualitativa, na qual optou-se por uma revisão narrativa da literatura, de caráter descritivo. Foi realizado um levantamento e pesquisa bibliográfica em sites e plataformas como 'pubmed', 'Google Acadêmico', 'scielo', e sites de universidades como UFRJ, USP, UFMG e outras. Os descritores utilizados para a pesquisa dos trabalhos foram: *Staphylococcus aureus* AND *essential oils* AND MRSA AND *inhibition* AND *resistance*. Este trabalho utiliza dados e levantamentos de artigos e pesquisas realizadas nos últimos 20 anos (2003 a 2023).

## 2 IDENTIFICAÇÃO

*Staphylococcus aureus* é uma espécie que pode apresentar normalmente a pigmentação amarela, podendo haver exceções. É comumente associada a condições patológicas, incluindo furúnculos, acne, pneumonia, osteomielite, meningite e artrite (Madigan; Martinko; Parker, 2004), além de também poder ter associação a infecções alimentares e síndromes, como a síndrome do choque tóxico. Quando se trata do nome *Staphylococcus aureus*, o nome deriva das palavras de origem grega *Staphyle*, que significa cacho de uva, e *coccus*, que significa semente. Como diz o nome, a bactéria é um coco agrupado em formatos semelhantes a cachos de uva (TRABULSI *et al.*, 2008).

Para a identificação laboratorial de amostras humanas, pode ser feita a coloração de Gram, prova da catalase e prova da DNase. A bactéria trata-se de um Gram-positivo, sendo então corada de azul ou roxo como dito em alguns materiais (Brasil, 2013).

O *S. aureus* utiliza o ser humano como hospedeiro, onde a relação pode variar. Nem sempre a espécie está presente na microbiota humana e quando está a relação normalmente é comensal. Quando ocorre um desequilíbrio a relação pode acabar se tornando parasítica, fazendo com que o *S. aureus* seja considerado um patógeno oportunista. No corpo humano o *Staphylococcus aureus* pode ser isolado principalmente em cavidades nasais, porém pode estar presente em diversos outros pontos como a faringe, vagina, axilas, períneo, tronco e os membros superiores (principalmente as mãos) (Brasil, 2019). Aproximadamente 20% da população humana nunca teve colonização por *S. aureus* e outros 20% apresentam colonização resistente, enquanto os 60% restantes apresentam populações intermitentes por

diferentes linhagens (Luna *et al.*, 2010).

### 3 PATOGENIA E FATORES DE VIRULÊNCIA

Quando a relação entre a bactéria e o hospedeiro não é comensal, o *Staphylococcus aureus* pode agir como principal causa de infecções superficiais, infecções profundas e até síndromes toxigênicas. Ela é uma bactéria já conhecida por causar furúnculos, carbúnculos e também podem causar a disseminação por bacteremia, que pode ser grave e causar choque séptico, trombose e até óbito (Santos *et al.*, 2007).

*S. aureus* também pode causar complicações no trato respiratório inferior, por exemplo a pneumonia, e também existe uma outra categoria de doenças causadas pelo *S. aureus*, que seriam as chamadas síndromes toxigênicas, associadas à produção de toxinas que agem como antígenos mais fortes, os chamados superantígenos, que têm a propriedade de realizar uma conexão entre duas células e ativar os linfócitos T, causando a multiplicação de interleucinas pró-inflamatórias que causam a morte celular. A síndrome mais grave causada por um superantígeno estafilocócico é a Síndrome do choque tóxico (TSS, do inglês *Toxic Shock Syndrome*) (Bush, 2021). Entretanto, nem todas as espécies de *S. aureus* são capazes de causar tais infecções, já que possuem diferentes constituições genéticas, algumas poderiam causar apenas infecções mais brandas ou de outros tipos.

O que torna o *Staphylococcus aureus* extremamente resistente contra as defesas do hospedeiro também é sua cápsula, praticamente todas as espécies isoladas produzem algum tipo de cápsula polissacarídica, que inibe a fagocitose pelo sistema imune do hospedeiro e é sintetizada por um *cluster* de genes. A maioria dos *S. aureus* isolados em humanos apresentavam cápsulas do tipo 5 ou 8, já que linhagens que apresentam cápsulas do tipo 1 ou 2 formam colônias de aspecto mucóide e raramente são isoladas em humanos. O *S. aureus* ainda apresenta proteínas transmembrânicas em sua parede celular, que são voltadas ao meio externo e possibilitam a interação da célula com os substratos e o tecido do hospedeiro. A proteína ligadora de colágeno é correlacionada com infecções de tecidos duros, enquanto a proteína ligadora de fibrinogênio (*clumping factor*) usa o fibrinogênio para se aderir a material inanimado que é recoberto. A fibronectina é alvo de proteínas

ligadoras também, e permite a extensão de *S. aureus* em sítios do hospedeiro, a adesina é uma proteína A estafilocócica que ajuda a causar a evasão do sistema imunológico (Trabulsi *et al.*, 2008).

O *S. aureus* é a espécie que mais produz enzimas extracelulares dentre o gênero *Staphylococcus*. A maior parte dessas enzimas são denominadas invasinas, pois auxiliam o *S. aureus* a penetrarem camadas mais profundas do hospedeiro. A maior parte das invasinas são enzimas líticas já que catalisam a quebra de moléculas complexas. O *S. aureus* também produz nucleases com ação catalítica sobre ácidos nucleicos. A nuclease termoestável tem ação como endonuclease, clivando ácidos nucleicos, e exonuclease, digerindo ácidos nucleicos a partir de suas extremidades, agindo ainda sobre DNA e RNA (Alterthum, 2015). Lipases degradam triacilgliceróis e fosfolipídios das células do hospedeiro e as Hialuronidasas degradam ácido hialurônico.

Outra classe de fatores de virulência são as Toxinas Citolíticas, que causam a formação de poros na membrana citoplasmática das células do hospedeiro, causando o extravasamento do conteúdo dessas células e a morte celular (Trabulsi *et al.*, 2008). Aqui é interessante ressaltar que infecções adquiridas com cepas resistentes a meticilina (MRSA) têm um curso clínico mais agressivo envolvendo principalmente pele e pulmões, sua maior agressividade é devida a produção de diversas toxinas, principalmente leucocidina de Pantón-Valentine (PVL). Ela é encontrada apenas em 5% das cepas isoladas e seu papel pode causar desde pneumonia necrotizante até infecções com destruição tissular, mesmo que seu papel seja controverso pois não parece haver relação entre virulência e a PVL (Trabulsi *et al.*, 2008).

Como um último fator de virulência, é bom citar brevemente a regulação da expressão gênica e o *quorum sensing* do *Staphylococcus aureus*, que provavelmente é o principal auxiliar em sua resistência. Graças a isso o *S. aureus* pode expressar diferentes genes em diferentes condições e fases de crescimento (Acosta *et al.*, 2017).

#### **4 RESISTÊNCIA BACTERIANA AOS ANTIBIÓTICOS**

Três condições são necessárias para que um antibiótico cause a inibição ou morte de uma bactéria: a existência de um alvo, o tempo e a concentração. A

existência de um alvo faz com que o antibiótico ou antimicrobiano deva ter a capacidade de atingir o alvo e não pode ser inativado antes de atingi-lo (Alterthum, 2015). Já a resistência que a bactéria desenvolve pode ser natural ou adquirida. A natural corresponde a uma característica da espécie em si, e todas as cepas terão essa característica de resistência. Na adquirida somente parte das amostras é resistente, gerando novas cepas que se diferenciam das outras.

Um conceito importante que deve ficar claro é que o antimicrobiano não induz a resistência e sim é um agente selecionador dos mais resistentes existentes no meio de uma população (Alterthum, 2015). O desenvolvimento de resistência por uma célula bacteriana é sempre resultado de uma alteração genética, expressa bioquimicamente. As alterações podem ser adquiridas por mutações cromossômicas, aquisição de plasmídeos ou por transposons (Souza, 2013).

A resistência por mutações é simples, e normalmente atinge só um antimicrobiano, dificilmente uma célula bacteriana sofre mutação simultânea e desenvolve resistência a dois ou mais antibióticos ou antimicrobianos. A mediada por plasmídeos (fator R) pode ser simples, mas normalmente é múltipla, tornando a bactéria resistente a mais de um antimicrobiano. Isso acontece porque é possível a presença de mais de um gene de resistência em um único plasmídeo. Também é característico da resistência, bactérias com mais de um plasmídeo R, que são normalmente as bactérias selecionadas de hospitais onde existe o uso frequente de antibióticos (Santos, 2004).

Tanto a resistência cromossômica como a extracromossômica podem ser transferidas de uma bactéria para outra, mesmo que a extracromossômica seja a mais estudada por conta de sua maior importância na prática (Trabulsi *et al*, 2015). São variados os mecanismos que podem levar uma bactéria à resistência: produção de enzimas que modificam a molécula do antimicrobiano, desativando-o; diminuição da permeabilidade à entrada do antimicrobiano; alteração de alvo; síntese de novas enzimas que não sofrem ação do antimicrobiano; expulsão do antimicrobiano do interior da célula (Oliveira, 2013).

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria que, como já dito anteriormente, conseguiu desenvolver cepas resistentes a quase todos os tipos de quimioterápicos e antibióticos desenvolvidos e utilizados atualmente, o que aumenta a necessidade da

criação de tratamentos inovadores e não convencionais para combater infecções causadas por essa bactéria.

#### 4.1 *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina (MRSA)

*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), trata-se da bactéria que desenvolveu resistência aos beta lactâmicos. No início, a penicilina era o antibiótico mais utilizado em tratamentos, incluindo contra o *S. aureus*, mas não durou mais do que dez anos. Essa bactéria desenvolveu resistência por conta da produção de beta-lactamases, que ao serem secretadas ao meio externo promovem a hidrólise do grupo farmacofórico dos antibióticos beta-lactâmicos. Foram descritos quatro tipos de beta-lactamases produzidas pela bactéria, conhecidos como A, B, C e D, e todos podem ser encontrados em uma única cepa. Os quatro tipos agem sobre penicilina G e aminopenicilinas (como amoxicilina e ampicilina), mas os tipos B, C e D têm maior ação sobre cefalosporinas de primeira geração (como a cefalexina) enquanto o tipo A tem ação sobre cefalosporinas de segunda geração (como a cefoxitina) (Alterthum, 2015).

Em 1940, a predominância de *S. aureus* produtor de beta-lactamases era de 50% e, dados mais recentes, demonstram a presença destas enzimas em mais de 90% das amostras (Madigan; Martinko; Parker, 2004). Isso nos leva à resistência à meticilina. Para controlar o problema de resistência aos beta-lactâmicos, em 1959, a indústria farmacêutica lançou a meticilina: uma penicilina estável que não era degradada pelas beta-lactamases (Alterthum, 2015). Em 1961, apenas alguns anos depois, surgiram as primeiras cepas resistentes à meticilina. A disseminação dessa nova cepa resistente foi global, em alguns anos o MRSA era um dos maiores problemas para a indústria farmacêutica, sendo até hoje por sua alta prevalência e disseminação e, principalmente devido a ineficácia de tratamentos existentes (Santos *et al.*, 2007).

Outras duas linhagens de MRSA foram encontradas. Foram descritas três novas classes de ilhas de patogenicidade: uma família de ilhas de toxina de choque tóxico; ilhas de exotoxina; ilhas de endotoxina e vários candidatos para novos fatores de virulência (Madigan; Martinko; Parker, 2004). É apresentada a ideia de que a virulência dessas duas linhagens se deve a aquisição por herança horizontal de genes

de muitas outras diferentes espécies, como também a extrema diversidade de superantígenos. *S. aureus* tem a capacidade de se adaptar às condições ambientais, como antibióticos e o sistema imunológico humano (Trabulsi *et al.*, 2008).

#### 4.2 Mecanismo de Resistência

A meticilina não era degradada pelas beta lactamases conhecidas, então a resistência a esse antibiótico veio de outro mecanismo, mecanismo esse que levava a resistência a todos os beta-lactâmicos. Todos os beta-lactâmicos agem inibindo a síntese da parede celular de bactérias, impedindo enzimas que catalisam a transpeptidação do peptidoglicano. Com a estrutura incompleta do peptidoglicano a parede celular da bactéria é enfraquecida e a célula morre. No entanto, no caso do *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA, do inglês *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*), a transpeptidação ocorre mesmo na presença desses antibióticos. No *S. aureus* existem quatro tipos de proteínas ligadoras de penicilina (*Penicillin-Binding Proteins*, PBPs), *PBP1*, *PBP2*, *PBP3* e *PBP4*, mas o MRSA ao invés de expressar a *PBP2* expressa a *PBP2a* (Gelatti *et al.*, 2009).

A *PBP2a* é a responsável por continuar a transpeptidação mesmo na presença de antibióticos, pois ela tem baixa afinidade aos beta lactâmicos e causa resistência aos antibióticos de uma vez só. A *PBP2a* é codificada pelo gene *mecA* que é encontrado presente em um elemento genético móvel que contém vários outros genes. O chamado Cassete Cromossômico Estafilocócico *mec* (*SCCmec*). Este possui 11 tipos de tamanhos diferentes com dois complexos característicos, os complexos *mec* e *ccr* (Mombach Pinheiro Machado *et al.*, 2007). A expressão do gene *mecA* só ocorre na presença de beta-lactâmicos, resultando na expressão da *PBP2a*. Sem os beta-lactâmicos o *mecA* é reprimido pelo *mecI*, que é ligada ao *mecA* e impede sua transcrição. Outra característica do complexo *mec* seria a *mecR1* que funciona como um sensor de beta-lactâmicos, quando um beta-lactâmico se une a *mecR1* sua porção intracelular é ativada e degrada a *mecI*, permitindo a expressão do *mecA* e do *PBP2a* (Alterthum, 2015).

O *SCCmec* pode se inserir em plasmídeos e se integrar em outros cromossomos bacterianos, porém dois genes podem impedir que ele se integre na posição correta, os *ccrA* e *ccrB*, que são divididos em *ccrA1*, *ccrA2* e *ccrA3* e *ccrB1*,

*ccrB2* e *ccrB3*. Existe, entretanto, um gene capaz de tanto impedir a integração do *SCCmec* quanto de posicioná-lo no local correto, o chamado *ccrC* (Mombach Pinheiro Machado *et al.*, 2007).

### 4.3 Resistência aos Glicopeptídeos

Juntamente com a resistência a todos os beta-lactâmicos, o MRSA causou preocupação, travando uma luta contra a indústria farmacêutica. Até 1990 os únicos antibióticos que ainda eram eficazes contra o MRSA eram os glicopeptídeos, em especial a vancomicina. Apesar de ter caído em desuso na época por ser usado apenas contra Gram-positivos, a vancomicina se tornou uma forte aliada na luta contra infecções por MRSA. Em 1997 a primeira cepa de MRSA resistente à vancomicina foi isolada no Japão (Silveira *et al.*, 2006).

## 5 TRATAMENTOS

Com o aumento das cepas de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina ao redor do mundo, a preocupação era compreensível, já que os infectados pelo MRSA têm cinco vezes mais risco de morte do que os infectados pelo *Staphylococcus aureus* sensível aos antibióticos (Lima; Souza; Silva, 2016). Esses dados comprovam a patogenicidade do MRSA e explica a preocupação da indústria em encontrar um substituto rápido para o tratamento do mesmo.

### 5.1 Mecanismos Inibidores de *Quorum Sensing*

O *quorum sensing* é um mecanismo da maioria das bactérias, responsável pela comunicação entre uma célula bacteriana e outra, ele é um fator muito importante na resistência bacteriana no geral. No caso do *Staphylococcus aureus*, o *quorum sensing* ajuda na produção de biofilme, um fator de virulência forte da espécie, além de também auxiliar na expressão de diferentes genes em diferentes etapas do crescimento e desenvolvimento da bactéria e dependendo do ambiente em que a mesma se encontra. Por conta do *quorum sensing*, se alguma célula bacteriana conseguir adquirir resistência a algum fator ou antibiótico, outras células podem obter informações e desenvolver a mesma resistência (Martins; Lima, 2021).

O *quorum sensing* também é uma grande aposta para o controle de patologias, a regulação do mesmo poderia impedir a comunicação celular que torna a bactéria resistente. Anos atrás, a utilização de antígenos capsulares para a produção de vacinas era uma opção que os pesquisadores achavam viável, atualmente, vendo que isso não seria mais efetivo, a utilização do próprio *quorum sensing* é a alternativa mais explorada. Os métodos de tratamento buscados hoje em dia, são em especial métodos que sejam capazes de realizar uma possível inibição do *quorum sensing* (Martins, Lima, 2021).

## 5.2 Tratamentos Convencionais

Nos casos de *S. aureus* sensíveis à meticilina, poderia ser utilizado cloxacilina, cotrimoxazol, quinolonas e eritromicina. A cloxacilina por ser um derivado da penicilina, os alérgicos ao composto eram recomendados tomarem eritromicina. Caso a bactéria fosse um MRSA, cloxacilina não era útil, assim como os outros antibióticos citados anteriormente, vindo daí a necessidade de um novo tratamento. A Vancomicina e a teicoplanina começaram a ser utilizados no tratamento do MRSA, porém eram utilizados quase exclusivamente em hospitais, já que a teicoplanina é administrada via intramuscular. Ambos antibióticos podem causar efeitos colaterais, sendo destacados principalmente no ouvido, rim ou na vermelhidão na pele causados pela vancomicina (Weigelt *et al.*, 2010).

Em casos de alergia a algum dos compostos ou até mesmo toxicidade, as alternativas se tornam inviáveis e não são eficazes normalmente. Nesses casos a rifampicina, fosfomicina ou ácido fusídico podem ser utilizados. Os medicamentos administrados via oral no tratamento do MRSA são normalmente a tetraciclina e a rifampicina combinadas, assim como a clindamicina, linezolida e o sulfametoxazol-trimetoprim (SMX-TMP, porém este contém restrição de uso em alguns países). Com os três combinados, trimetoprim inibe etapas sucessivas na biossíntese do folato, enquanto clindamicina e linezolida inibem a síntese proteica, com isso etapas importantes da reprodução da bactéria são afetadas. Essa combinação se mostrou eficaz no tratamento contra o MRSA na comunidade, mas seriam necessários mais estudos clínicos para comprovar a eficácia na população geral (Luna *et al.*, 2010).

As tetraciclinas agem inibindo a síntese proteica bacteriana, a boa penetração tecidual dessa classe de medicamentos se tornou um motivo para a opção ser utilizada no tratamento ambulatorial do MRSA. Normalmente a rifampicina utilizada no tratamento de MRSA é feita através de terapia de combinação, já que o tratamento apenas com a rifampicina tem a limitação do desenvolvimento de resistência. O aumento da prevalência de MRSA em infecções hospitalares e comunitárias levou a um grande aumento do uso da vancomicina e, como resultado, as cepas de MRSA começaram a desenvolver mecanismos de resistência (Luna *et al.*, 2010).

A tigeciclina é uma glicilciclina com alta atividade contra patógenos Gram-positivos, incluindo MRSA. Ela se liga à subunidade ribossômica 30S, inibindo a síntese de proteínas e o crescimento bacteriano em consequência. A daptomicina trata-se de um lipopeptídeo cíclico que se liga e se insere nas membranas das bactérias Gram-positivas, onde causa a rápida despolarização da membrana e a morte da célula, porém é desativada pelo surfactante pulmonar, o que impede seu uso em pneumonias. A quinupristina-dalfopristina (QD) é uma combinação de duas estreptograminas que apresentam atividade contra bactérias Gram-positivas, porém costuma ser utilizado apenas quando o paciente tem infecções que não respondem aos outros tratamentos ou é intolerante ao tratamento inicial com outros antibióticos (Fanin *et al.*, 2020).

Ainda assim, todos os tratamentos convencionais correm o risco de toxicidade caso a dose administrada seja maior que a indicada para cada tipo de infecção, ou caso haja o uso abusivo do antibiótico. Existe também a grande chance do MRSA desenvolver uma resistência parcial aos antimicrobianos, ou até mesmo resistência plena, criando novas cepas como a de *Staphylococcus aureus* resistente à Vancomicina (VRSA, do inglês *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus*) (Fanin *et al.*, 2020).

### 5.3 Tratamentos Não Convencionais

Mesmo com tantos tratamentos convencionais disponíveis, exemplifica-se que nos Estados Unidos (EUA), anualmente, pelo menos 2 milhões de pessoas são infectadas por bactérias resistentes, e no Brasil a permanência dessas bactérias

também é uma realidade em todos os estados. (Dellalibera-Joviliano, 2020).

Se contarmos a grande resistência que o *Staphylococcus aureus* possui à antibióticos no geral, e principalmente em como existe a possibilidade deste microrganismo desenvolver resistência a outros antibióticos atuais, é possível dizer que ele é considerado uma bactéria resistente. Nesta situação, é comum que tratamentos alternativos sejam procurados, que não causem tantos efeitos colaterais quanto os antibióticos atualmente utilizados e que possam ser eficientes contra possíveis novas mutações (Trabulsi *et al.*, 2008). Em pesquisas realizadas para este trabalho, as atuais opções sendo utilizadas e estudadas são: a fitoterapia ou ervas medicinais; mecanismos inibidores do *quorum sensing*; além de tratamentos alternativos como óleos essenciais e ozonioterapia.

### 5.3.1 Fitoterapia e Ervas Medicinais

A fitoterapia provavelmente é o tipo de tratamento mais antigo do mundo, antes dos antibióticos serem descobertos ou até mesmo antes da ciência e tecnologia, as pessoas acreditavam que plantas tinham propriedades medicinais contra quase tudo (e em certos casos, eles estavam certos) (Barbosa Baptista, 2017).

A alternativa buscada em métodos fitoterápicos é a de procurar por plantas e ervas que possuem substâncias inibidoras de microrganismos resistentes. Em 1978, a Organização Mundial da Saúde reconheceu oficialmente o uso de fitoterápicos (Brasil, 2006). Basicamente todos os medicamentos feitos que possuam plantas em sua composição podem ser considerados fitoterápicos, e isso nos leva a um importante método alternativo: Óleos essenciais.

### 5.3.2 Óleos Essenciais

Os óleos essenciais são compostos de metabólitos secundários das plantas e vegetais com usos medicinais, e têm diversos usos, dentre eles, a atividade antimicrobiana (Millezi *et al.*, 2014). Muitos óleos essenciais têm demonstrado eficiência contra infecções alimentares e bactérias deteriorantes (Bassanetti *et al.*, 2017). Silva *et al.* (2018) identificaram o perfil da resistência antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados de frangos utilizando diferentes antibióticos e óleos

essenciais de alecrim, capim e pimenta preta.

Os óleos essenciais são considerados uma forma de fitoterapia em especial por sua composição majoritariamente por plantas e seus óleos: óleos de alecrim, orégano, gergelim, canela, rosas, eucalipto, lavanda etc. Absolutamente qualquer planta pode acabar se tornando um óleo essencial. A história dos óleos essenciais é antiga, de civilizações chinesas e egípcias, que os usavam como medicamentos e cosméticos de beleza (Chao *et al.*, 2008). Extraíndo o óleo essencial de uma planta era possível fazer qualquer tipo de medicamento para a época. Utilizados até mesmo como a chamada “aromaterapia”, diversos óleos essenciais já foram testados em diversos tipos de bactérias, incluindo o *Staphylococcus aureus* e o MRSA. O objetivo é encontrar algum que seja capaz de inibir o *quorum sensing* da bactéria, ou então de inibir sua reprodução ou algum mecanismo de resistência (Stevensen, 1998).

### 5.3.3 Ozonioterapia

O gás ozônio é um gás presente na atmosfera. A ozonioterapia é uma terapia médica totalmente dependente deste gás. Ela consiste basicamente em administrar o gás ozônio no corpo, de forma intravenosa, o que supostamente ajudaria a aumentar a oxigenação dos tecidos e aumentar a resposta do sistema imunológico contra infecções, feridas, além de ajudar a aliviar a dor crônica. A ozonioterapia não é reconhecida pela OMS ou qualquer outro órgão de saúde no tratamento de qualquer tipo de doenças ou infecções, ainda que vários médicos no Brasil defendam a terapia e alguns até pratiquem a mesma (Bezerra, 2023).

Em um relatório recente, publicado por pesquisadores norte-americanos, foi apresentada a ciência básica do ozônio por meio de um estudo de caso em que uma infecção bacteriana aguda foi tratada através da Ozonioterapia. Em casos de celulite por picada de carrapato, o problema foi resolvido com extrema velocidade, entre 24h e 48h. Por esses motivos, a terapia é extremamente defendida por aqueles que a utilizam e a praticam (Clínicas Doutor Ozônio, 2019).

## 6 RESULTADOS

Todos os tratamentos descritos aqui, foram testados inicialmente com cepas de

*Staphylococcus aureus* sensível aos antibióticos, incluindo cepas *American Type Culture Collection* (ATCC). Era necessário a observação de um halo de inibição, assim como uma concentração inibitória mínima (CMI) e uma concentração bactericida mínima (CBM). A CMI foi definida como a menor concentração do agente antimicrobiano capaz de inibir 100% o crescimento microbiano, absorvência, em relação aos controles negativos. A CBM foi determinada considerando a menor concentração dos extratos capaz de impedir o crescimento bacteriano visível (Fabris, 2017).

## 6.1 Óleos Essenciais

Os resultados apresentados para os tratamentos feitos com óleos essenciais em *Staphylococcus aureus* de uma cepa sensível aos antibióticos foram bons. A bactéria apresentou-se sensível aos óleos essenciais de capim-limão, pimenta-preta e alecrim (Silva *et al.*, 2018). Outros óleos também foram testados como tomilho, cardamomo, cravo botão, funcho doce, óregano, lípia, gengibre, sálvia, manjerição e tangerina, dentre esses o óleo de tomilho em concentração 0,25% foi o mais eficaz, enquanto o de cardamomo em concentração 1% não eliminou a quantidade de células bacterianas mínimas de acordo com Pereira, *et al* (2014).

É importante ressaltar que todos os óleos testados precisavam ter uma concentração mínima de inibição, além de que também era necessário uma concentração bactericida mínima. No experimento de Pozzo *et al* (2011), foram utilizados os óleos de orégano, tomilho, lippia, manjerição, gengibre, sálvia e alecrim, e os óleos com maiores concentrações de carvacrol, timol, cinamaldeído e cinol apresentaram maiores resultados antibactericidas. O carvacrol demonstra agir diretamente sobre a membrana celular, dissolvendo a bicamada fosfolipídica, causando a desestabilização da membrana (Ultee *et al.*, 2002). Ambos carvacrol e timol também são conhecidos por desintegrar a membrana externa de bactérias Gram-negativas (Helander *et al.*, 1998). O óleo de tomilho e orégano obtiveram uma concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima, enquanto o de lippia já não obteve tantos resultados.

De acordo com Santos *et al* (2016), alguns óleos essenciais cítricos também

apresentavam bons efeitos inibitórios contra *Staphylococcus aureus* sensível aos antibióticos, como o óleo de tangerina por exemplo. Rodrigues *et al* (2013) realizou um estudo com *Staphylococcus* coagulase negativa e *Staphylococcus* coagulase positiva isolados de mastite bovina, utilizando óleo de copaíba em um estudo in vitro. Foi observado que o óleo poderia ser utilizado como tratamento alternativo, já que obteve bons resultados em uma concentração de 25% e 50%.

Em MRSA, um estudo realizado por Tohidpour *et al.* (2010) com *Eucalyptus globulus* e *Thymus vulgaris* mostrou os resultados que ambos os óleos essenciais tem contra cepas de MRSA, não foram tão bons e quase não houve a formação de halos de inibição. Entretanto, Elangovan, Mudgil (2023) analisaram os resultados de mais de 20 estudos utilizando o óleo de *E. globulus*, onde os resultados foram promissores, em especial quando combinado com antibióticos ou outros óleos.

O óleo de *Illicium verum* também foi estudado contra o MRSA por Govindaraj Vaithinathan e Vanitha, 2018, onde os resultados foram encorajadores com halos de inibição de 24mm em uma Concentração Inibitória Mínima (MIC) de 0,70 e uma concentração bactericida mínima é de 0.97 µg/mL. A bactéria foi isolada de diversos ambientes como cateteres, *swabs*, pele, ouvido e úlceras, e testada com o óleo em diferentes concentrações. Foi observado a eficácia do óleo em todos os casos, com halos de inibição de 27mm para a bactéria isolada em catéter, com 0,25 µg/mL de MIC.

Por fim, também foram realizadas pesquisas com óleo de *Anethum graveolens* por Manzuoerh *et al.* (2019) em feridas infectadas por MRSA, onde foram tratados pacientes com óleo essencial de *Anethum graveolens* em concentração 4%, 2% e pacientes controle com tratamentos convencionais. Foi observado que pacientes tratando as feridas com o óleo essencial em concentrações de 4% apresentou cicatrização mais rápida, seguido pelos pacientes que utilizaram o óleo em concentração 2%, ambos apresentavam 100% de cicatrização após 16 dias de uso, enquanto os pacientes controle ainda apresentavam os ferimentos dentro desses 16 dias.

## 6.2 Fitoterapia

Um estudo feito com o extrato vegetal das plantas *Annona crassiflora* (*A. crassiflora*, popular Araticum), *Senecio brasiliensis* (*S. brasiliensis*) e *Caryocar brasiliense* (*C. brasiliense*, popular pequi) por Ribeiro (2015), utilizou o etanólico da *A. crassiflora* e o etanólico e aquoso da *S. brasiliensis* e *C. brasiliense* e constatou que os cinco tinham efeito contra cepas de *S. aureus*, apresentando concentrações inibitórias mínimas e concentrações bactericidas mínimas. Castro *et al* (2015) realizou um experimento semelhante, colocando o extrato etanólico de *Alpinia zerumbet* (*A. zerumbet*) contra cepas de *S. aureus* isoladas de vacas com mastite e cepas padrão ATCC 29213 e ATCC 25923. O extrato etanólico apresentou ação significativa contra essas bactérias e se mostrou um tratamento bom contra a mastite.

## 6.3 Ozonioterapia

Já com a ozonioterapia, os primeiros estudos foram feitos *in vitro* com cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* por Pereira *et al.* (2005), onde foi concluído que o gás ozônio teve resultado na inibição de 100% do crescimento bacterianos de ambas as cepas utilizadas. Couto *et al.* (2016) já realizou o estudo com cepas de *S. aureus* artificialmente inoculadas em leite integral e desnatado. A quantidade de bactérias foi medida antes do experimento e imediatamente após a aplicação do gás ozônio. Foi constatado que no leite desnatado houve uma diminuição considerável de bactérias após os 20 minutos de exposição ao gás ozônio, foi questionado então que a gordura do leite integral afete na capacidade bactericida do gás, e surge a questão se aconteceria o mesmo com a gordura humana.

O gás ozônio também foi testado com *S. aureus* produtores de biofilme, Velano *et al.* (2001) diluiu o gás ozônio em água (concentração de 0,6 mg/L) sob uma placa com as cepas de *Staphylococcus aureus*, e foi visto que em um período de tempo de 5 minutos e 25 segundos houve completa inibição do crescimento da bactéria na placa e no meio de cultura.

Com o MRSA, o número de estudos diminui, porém de acordo com Song *et al.* (2018), em um estudo realizado com cepas de *S. aureus* (ATCC 6538) e de MRSA (ATCC 43300), para avaliar os resultados do tratamento com ozônio em infecções de

pele, o ozônio foi diluído em óleo, e foi utilizado um óleo basal controle sem ozônio. Ao final do experimento se observou que o óleo ozonizado teve resultados muito superiores aos do óleo controle, eliminando 100% das bactérias da cepa de *S. aureus* em torno de 5 minutos e aproximadamente 100% das bactérias da cepa de MRSA em torno de 15 minutos. Fizeram o estudo com água ozonizada também antes de seguirem para o teste com pacientes de um hospital, seguindo aprovação do comitê de ética.

A idade dos pacientes variava entre os casos, mas a maioria era do sexo masculino, antes dos 30 anos, com infecções de pele causadas pelo MRSA com resistência parcial a maioria dos tratamentos com antibióticos. Os pacientes trataram as feridas em casa, com água e óleo ozonizados duas vezes ao dia e em torno de quatro dias após início do tratamento houve remoção do tecido necrosado. As áreas afetadas diminuíram em mais de 70% após o primeiro mês de uso, e estavam quase 100% curadas após o segundo mês. Em um caso, mesmo após um mês depois da interrupção do tratamento, testes revelaram que não houve mais nenhum crescimento bacteriano, em outro caso, 12 dias após o tratamento ainda não havia nenhum crescimento bacteriano (Song *et al.*, 2018).

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após análise dos resultados apresentados e de estudos realizados por diferentes pesquisadores, observou-se um grande aumento das pesquisas com resistência bacteriana e tratamentos não convencionais, demonstrando a urgência da indústria farmacêutica em encontrar novos caminhos para os tratamentos das doenças e infecções bacterianas, não só pelo *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA), mas outras bactérias resistentes que causam preocupação. Os antibióticos utilizados começaram a perder eficácia para algumas cepas, assim como podem causar alergias, toxicidade e até mesmo contribuir na seleção das cepas mais resistentes no ambiente, enquanto métodos não convencionais não são mais explorados mesmo que pudessem obter resultados favoráveis.

Alguns métodos ainda não são aceitos ou aprovados pela OMS como forma de tratamento, como é o caso do ozônio, e a maioria ainda precisa de estudos mais

aprofundados, com mais dados e diferentes tipos de testes para garantir a eficácia do tipo de tratamento. Alguns estudos ainda não foram sequer testados em bactérias com resistência, pois ainda estão sendo averiguados resultados ambíguos em bactérias de cepas comuns *American Type Culture Collection*. Outros métodos ainda são explorados, como a homeopatia e métodos descobertos recentemente, como a descoberta feita pelo Instituto Butantan, que encontrou uma molécula com potencial de combater bactérias e fungos resistentes, batizada de “Doderlina” (Caniato, 2023).

É visto então que métodos novos e diferenciados ainda precisam ser mais explorados, e novas pesquisas mais aprofundadas e experimentos precisam ser realizados com os métodos já conhecidos. Os resultados se apresentaram favoráveis nos estudos já feitos, e os métodos são menos tóxicos e mais viáveis que a maioria da produção de antibióticos, mais estudos e dados precisos poderiam ser a saída do caminho que a ciência e a indústria farmacêutica têm percorrido por tanto tempo.

## REFERÊNCIAS

ACOSTA, A. C. et al. **Fatores de virulência de *Staphylococcus aureus***. Recife: UFRPE, 2017.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Detecção E Identificação De Bactérias De Importância Médica**. Brasil: Secretaria De Saúde, 2013.

AHMED, S.A; JABBAR, I.I.; ABDUL, H.E. Study the antibacterial activity of *Zingiber officinale* roots against some of pathogenic bacteria. **Al-Mustansiriya Journal Science**. v.23, n.3, , p.63-70. 2012.

ALTERTHUM, Flavio. Microbiologia. 6. ed. São Paulo: **Atheneu**, 2015. *E-book*. Disponível em: <https://plataforma.bvirtual.com.br>. Acesso em: 15 out. 2023.

BARBOSA BAPTISTA, A. As bactérias multirresistentes hospitalares e as plantas medicinais. DESAFIOS - **Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, [S. l.], v. 4, n. 4, p. 1–2, 2017. Disponível em: <https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/desafios/article/view/5030>. Acesso em: 15 ago. 2022.

BASSANETTI, I., CARCELLI, M., BUSCHINI, A., MONTALBANO, S., LEONARDI, G., PELAGATTI, P., TOSI, G., MASSI, P., FIORENTINI, L., & ROGOLINO, D. (2017). Investigation of antibacterial activity of new classes of essential oils derivatives. **Food Control**, 73, (B), 606-612. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.09.010>

BEZERRA, C. **Ozonioterapia: o que é, para que serve e como é feita**. Disponível em: <<https://www.tuasaude.com/tratamento-com-ozonio/>>.

BUSH, L. M. Infecções Por *Staphylococcus aureus*. **Manual MSD Versão Saúde Para a Família**. College of Medicine, Florida Atlantic University Manuais MSD, 4 mar. 2021. Disponível em: <<https://www.msmanuals.com/pt-br/casa/infec%C3%A7%C3%B5es/infec%C3%A7%C3%B5es-bacterianas-bact%C3%A9rias-gram-positivas/infec%C3%A7%C3%B5es-por-staphylococcus-aureus>>. Acesso em: 24 jul. 2023

CANIATO, B. Butantan Identifica Potencial Antibiótico Contra Superbactérias | **Maquiavel. VEJA**, 1 out. 2023. Disponível em: <<https://veja.abril.com.br/coluna/maquiavel/butantan-identifica-potencial-antibiotico-contra-superbacterias>>

CASTRO, K. N. C.; LIMA, D. F.; VASCONCELOS, L. C.; SANTOS, R. C.; PEREIRA, A. M. L.; FOGAÇA, F. H. S.; CANUTO, K. M.; BRITO, E. S., & CALVE, R. M. (2016). Composição química e eficácia do óleo essencial e do extrato etanólico de *Alpinia zerumbet* sobre *Staphylococcus aureus*. **Arq. Inst. Biol.**, 83, 1-7. 10.1590/1808-1657000192014

CHAO, S. et al. Inhibition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, n. 6, p. 444–449, nov. 2008.

CLÍNICAS DOUTOR OZÔNIO. **Como funciona a terapia com ozônio no tratamento de infecções bacterianas?** Disponível em: <<https://www.saudecomozonio.com.br/2019/11/11/como-funciona-a-terapia-com-ozonio-no-tratamento-de-infecoes-bacterianas/>>. Acesso em: 15 out. 2023.

COUTO, E. P.; ALENCAR, E. R.; GONÇALVES, V. S. P.; SANTOS, A. J. P.; RIBEIRO, J. L.; & FERREIRA, M. A. (2016). Effect of ozonation on the *Staphylococcus aureus* inoculated in milk. **Semina**, 37 (4), 1911-1918. <https://www.redalyc.org/pdf/4457/445749546045.pdf>

DELLALIBERA-JOVILIANO, R.; DE MELO, S. A.; CENI, H. de M. R. Therapeutic alternatives and application of bacteriophages as a strategy in the use of bacterial diseases. **Revista de Medicina**, [S. l.], v. 99, n. 1, p. 88-95, 2020. DOI: 10.11606/issn.1679-9836.v99i1p88-95. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/revistadc/article/view/163982>. Acesso em: 15 ago. 2022.

ELANGOVAN, S.; MUDGIL, P. Antibacterial Properties of *Eucalyptus globulus* Essential Oil against MRSA: A Systematic Review. **Antibiotics**, v. 12, n. 3, p. 474, 27 fev. 2023.

FABRIS, R. DE C. **Concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima de extratos hidroalcoólicos das folhas de *Myracrodruon urundeuva* All. e *Qualea grandiflora* Mart. sobre *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei*.** Disponível em: <<https://teses.usp.br/teses/disponiveis/25/25149/tde-19022018-105838/pt-br.php>>. Acesso em: 3 out. 2023.

FANIN, M. et al. Métodos alternativos no tratamento de infecções causadas por

*Staphylococcus aureus*. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 14, n. 1, p. 24, 10 ago. 2020.

FREITAS, G. D. et al. Uso de diferentes métodos no controle do desenvolvimento do *Staphylococcus aureus*: uma revisão da literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e40310212546–e40310212546, 21 fev. 2021.

GELATTI, L. C. et al. *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 5, p. 501–506, 1 out. 2009.

GOVINDARAJ VAITHINATHAN, A.; VANITHA, A. WHO global priority pathogens list on antibiotic resistance: an urgent need for action to integrate One Health data. **Perspectives in Public Health**, v. 138, n. 2, p. 87–88, 21 fev. 2018.

HELANDER, I. M.; ALAKOMI, H. L.; LATVA-KALA, K.; MATTILA-SANDHOLM, T.; POL, I.; SMID, E. J.; GORRIS, L. G. M. WRIGHT, A. V. Characterization of the action of 31 selected essential oil components on Gram-negative bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 46, p. 3590–3595. 1998.

LIMA, K. P. DE O. C. DE; SOUZA, T. A.; SILVA, A. DO N. E. AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTES À METICILINA EM ESTUDANTES DA ÁREA DA SAÚDE. **UNILUS Ensino e Pesquisa**, 22 abr. 2016.

LIMA, Renata Silva. *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina em estudantes da área da saúde. In: UFRJ (RJ). **Instituto de microbiologia Paulo de Góes UFRJ**. Microbiologia. Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <https://www.microbiologia.ufrj.br/portal/index.php/pt/graduacao/informes-da-graduacao/942staphylococcus-aureus-resistentes-a-meticilina-em-estudantes-da-area-da-saude>. Acesso em: 16 ago. 2022.

LUNA, C. M. et al. Tratamento de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina na América Latina. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 14, p. 119–127, 1 dez. 2010.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. Microbiologia de Brock. 10. ed. São Paulo, SP: **Pearson**, 2004. *E-book*. Disponível em: <https://plataforma.bvirtual.com.br>. Acesso em: 15 out. 2023.

MANZUOERH, R. et al. Effectiveness of topical administration of *Anethum graveolens* essential oil on MRSA-infected wounds. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 109, p. 1650–1658, jan. 2019.

MARTINS, Isabela Fernanda Morales; LIMA, Patricia da Silva. Alternativas aos antibióticos no combate às superbactérias: Pesquisas recentes buscam antimicrobianos diversificados para nos munir na guerra contra as superbactérias. In: UFSCAR (São Paulo). Universidade Federal de São Carlos. **Temas atuais em Biologia**. São Carlos: UFSCAR, 2021. Disponível em: <http://www.temasbio.ufscar.br/?q=artigos/alternativas-aos-antibi%C3%B3ticos-no-combate%C3%A0s-superbact%C3%A9rias>. Acesso em: 16 ago. 2022.

MILLEZI, A. F. et al. Caracterização e atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas condimentares e medicinais contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 3, p. 373–379, 2013.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. A Fitoterapia No SUS E O Programa De Pesquisas De Plantas Mediciniais Da Central De Medicamentos. **Biblioteca Virtual Em Saúde**. Brasília - DF: Governo Brasileiro, 2006. Disponível em: <[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/fitoterapia\\_no\\_sus.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/fitoterapia_no_sus.pdf)>.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia De Vigilância Em Saúde**. Brasil: Governo, 2019. Disponível em: <[https://www.saude.gov.br/files/vigilancia/ambiental/controle-vetorial/guia-vigilancia-sau-de-volume-unico-3ed\\_2019.pdf](https://www.saude.gov.br/files/vigilancia/ambiental/controle-vetorial/guia-vigilancia-sau-de-volume-unico-3ed_2019.pdf)>.

MOMBACH PINHEIRO MACHADO, A.B., REITER, K.C., PAIVA, R.M., BARTH A.L. Distribution of *staphylococcal* cassette chromosome mec (SCCmec) types I, II, III and IV in coagulase-negative *staphylococci* from patients attending a tertiary hospital in southern Brazil. **J Med Microbiol**. 2007; 56:1328-33.

MUHSINAH, A. B. et al. Antibacterial activity of *Illicium verum* essential oil against MRSA clinical isolates and determination of its phyto-chemical components. **Journal of King Saud University - Science**, v. 34, n. 2, p. 101800, fev. 2022.

OLIVEIRA, D. M. Avaliação Da Citotoxicidade E Da Atividade Antimicrobiana E Antioxidante Do Extrato Hidroetanólico De *Leonotis nepetaefolia* (L) R. Br. **Universidade Federal De Mato Grosso**. Mato Grosso: UFMT, 2013. Disponível em: <[https://ri.ufmt.br/bitstream/1/1590/1/DISS\\_2013\\_Darley%20Maria%20Oliveira.pdf](https://ri.ufmt.br/bitstream/1/1590/1/DISS_2013_Darley%20Maria%20Oliveira.pdf)>.

PEREIRA, A. A.; PICCOLI, R.H.; BATISTA, N.N.; CAMARGOS, N.G.; OLIVEIRA, M.M.M. Inativação Termoquímica de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enterica* Enteritidis por óleos essenciais. **Ciência Rural**, 44(11): 2022-2028, 2014.

POZZO, M.D.; VIEGAS, J.; SANTURIO, D.F.; ROSSATTO, L.; SOARES, I.H.; ALVES, S.H.; COSTA, M.M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a *Staphylococcus* spp. isolados de mastite caprina. **Ciência Rural**, 41(4): 667-672, 2011.

RIBEIRO, I. C. O. (2015). Extratos de plantas do Cerrado com eficácia in vitro contra *Staphylococcus* spp. e *Escherichia coli* de bovinos [**Dissertação do Curso de Mestrado, Produção Animal Universidade Federal de Minas Gerais**].

RODRIGUES, F.G.; KOZERSKI, N.D.; GAZIM, Z.C.; GONÇALVES, D.D.; MARTINS, L.A. Atividade bactericida da *Copaifera* sp. frente a *Staphylococcus* spp. isolados de mastite bovina. **Enciclopédia Biosfera**, 9(17): 293-301, 2013.

SANTOS, A. L. DOS et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413–423, dez. 2007.

SANTOS, A.O.; FREIRE, J.; CARVALHO, T.; BARBOSA, T.; PRATES, R.; LOPES SILVA,

J.; FARIAS, P. Atividade antibacteriana e antioxidante de óleos essenciais cítricos com potencialidade para inclusão como aditivos em alimentos. **Caderno de Ciências Agrárias**, 8(3): 15-21, 2016.

SANTOS, N. DE Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto & Contexto - Enfermagem**, v. 13, n. spe, p. 64–70, 2004.

SILVA, A. C. et al. RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* E *Escherichia coli* ISOLADOS DE CARÇAÇAS DE FRANGOS: RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS E ÓLEOS ESSENCIAIS. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 8, n. 1, 13 jun. 2018.

SILVEIRA, G. P. et al. Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 844–855, jul. 2006.

SONG, M. et al. The antibacterial effect of topical ozone on the treatment of MRSA skin infection. **Molecular Medicine Reports**, v. 17, n. 2, p. 2449–2455, 1 fev. 2018.

SOUZA, D. M. **Detecção de Mecanismos de Resistência** *Ciência News*. São José do Rio Preto: Academia De Ciência e Tecnologia, jun. 2013. Disponível em: <[https://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/microbiologia/resistencia\\_bacteriana/1-Deteccao-de-mecanismos-de-resistencia.pdf](https://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/microbiologia/resistencia_bacteriana/1-Deteccao-de-mecanismos-de-resistencia.pdf)>.

STEVENSEN, C. J. Aromatherapy in dermatology. **Clinics in Dermatology**, v. 16, n. 6, p. 689–694, nov. 1998.

TOHIDPOUR, A. et al. Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Phytomedicine**, v. 17, n. 2, p. 142–145, fev. 2010.

TORRES, A. S.; PERONICO, U. L. O.; KOCERGINSKY, P. O. ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE *Staphylococcus aureus* A PARTIR DE NASOFARINGE DE PROFISSIONAIS DE SAÚDE: UMA REVISÃO DE LITERATURA. **Temas em Saúde**. João Pessoa, ano 2017, v. 17, n. 2, 10 fev. 2017. Artigo, p. 143-148. Disponível em: <https://temasemsaude.com/wp-content/uploads/2017/08/17211.pdf>. Acesso em: 16 ago. 2022.

TRABULSI, L. R. et al. **Microbiologia**. 6. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

ULTEE, A.; BENNINK, M. H. J.; MOEZELAAR, R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 68, n. 4, p. 1561–1568. 2002.

VELANO, H.E.; NASCIMENTO, L.C.; BARROS, L.M.; PANZERI, H. A avaliação in vitro da atividade antibacteriana da água ozonizada frente ao *Staphylococcus aureus*. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, 15(1): 18-22, 2001.

WEIGELT, J.; ITANI, K.; STEVENS, D. Linezolid versus vancomycin in treatment of complicated skin and soft tissue infections. **Antimicrob Agents Chemother.** 2005. 49(6):2260-6

# **MASKNE: UMA ABORDAGEM DE ALTERAÇÕES CUTÂNEAS RELACIONADAS AO USO PROLONGADO DE MÁSCARAS FRENTE À PANDEMIA DA COVID-19**

## **MASKNE: AN APPROACH TO CUT NEAS CHANGES RELATED TO PROLONGED WEARING OF MASKS AGAINST THE COVID-19 PANDEMIC**

Thaís Fernanda Kauffuman Pereira Carvalho<sup>1</sup>  
Karina de Almeida Gualtieri<sup>2</sup>

819

### **RESUMO**

“Maskne” é um novo termo recém-criado derivado da contração da acne relacionada à máscara, usada durante a pandemia de COVID-19 de 2020. Refere-se a um subconjunto de acne mecânica, resultante da aderência e fricção contínua entre o tecido e a pele. O uso prolongado da máscara aquece o ambiente do rosto, modificando a microbiota da pele e a produção de sebo. Merecendo consideração devido ao uso generalizado de máscaras de tecido reutilizável para controlar a pandemia em todo o mundo. A introdução de proteção pessoal equipamentos (EPI), como máscaras, alteraram drasticamente a dermato epidemiologia das dermatoses da face. A compreensão da fisiopatologia subjacente está diretamente relacionada ao novo microambiente da pele e à fricção tecido-pele criada pelo uso de máscara. Especificamente, o microambiente oclusivo leva à disbiose do microbioma, que está ligada a várias condições dermatológicas. As interações tecido-pele adicionais incluem fatores como respirabilidade, sensação de pegajosidade, saturação de umidade e manutenção da higiene. O aumento da temperatura da pele pode desencadear dermatoses relacionadas ao suor, calor e loops de ouvido podem desencadear dermatoses induzidas por pressão. O algodão, como o tecido tradicional de escolha para pacientes dermatológicos, tem benefícios limitados no contexto de máscaras faciais - o aumento do desconforto subjetivo está relacionado ao aumento da saturação de umidade e viscosidade, inevitável por causa da alta carga de biofluido dos orifícios nasal e oral.

**Palavras-chaves:** acne; COVID-19; maskne; dermato epidemiologia.

### **ABSTRACT**

“Maskne” is a newly coined term derived from the contraction of mask-related acne used during the 2020 COVID-19 pandemic. It refers to a subset of mechanical acne, resulting from adhesion and continuous friction between tissue and the skin. Prolonged use of the mask warms the face environment, modifying the skin's microbiota and sebum production. Deserving consideration due to the widespread use of reusable

<sup>1</sup> Graduanda do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil), Londrina/PR, Brasil. E-mail: thaiskauffuman@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Orientadora e Docente Titular do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil). Londrina/PR, Brasil. E-mail: karina.gualtieri@unifil.br

fabric masks to control the pandemic around the world. The introduction of personal protective equipment (PPE), such as masks, drastically changed the dermatology of facial dermatoses. Understanding the underlying pathophysiology is directly related to the new skin microenvironment and the tissue-skin friction created by mask use. Specifically, the occlusive microenvironment leads to microbiome dysbiosis, which is linked to various dermatological conditions. Additional fabric-skin interactions include factors such as breathability, stickiness, moisture saturation, and maintenance of hygiene. Rising skin temperature can trigger sweat-related dermatitis, heat and ear loops can trigger pressure-induced dermatitis. Cotton, as the traditional fabric of choice for dermatological patients, has limited benefits in the context of face masks - increased subjective discomfort is related to increased moisture saturation and viscosity, unavoidable because of the high biofluid load from the nasal orifices and oral.

**Keywords:** acne; COVID-19; maskne; dermatology epidemiology.

## 1 INTRODUÇÃO

Desde os primeiros registros de casos em 2019, até o momento atual, a pandemia denominada COVID-19, ocasionada pelo SARS-CoV2, também conhecido como novo coronavírus, têm sua forma de transmissão por meio da aspersão de pequenas gotículas emitidas por pessoas infectadas. Fato que levou internacionalmente a uma situação de emergência de saúde pública, exigindo de órgãos como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) diversas medidas preventivas como o isolamento social, a intensificação de medidas de higiene e, o uso obrigatório das máscaras de proteção facial (ANVISA, 2020; CHU et al., 2020).

Szepietowski e colaboradores (2020) relataram em seus estudos, que o uso das máscaras faciais por períodos prolongados e com maior frequência trouxeram danos e alterações na integridade da pele. As alterações relatadas com maior frequência envolvem diferentes tipos de dermatoses e até mesmo hiperpigmentação nas áreas de nariz, bochecha e queixo (MARRAHA; FAKER; GALLOUJ, 2020).

A necessidade de utilização de equipamentos de proteção individual, as máscaras, entre os profissionais de saúde e o público em geral fez surgir inúmeras dermatoses faciais relacionadas ao seu uso, das quais surgiu o termo maskne ou máscara acne. Embora o uso prolongado da máscara tenha sido necessário, a grande maioria das pessoas desenvolveu várias alterações cutâneas nesse período (TEO, 2021).

A microbiota da pele é influenciada por fatores genéticos e externos, como

ambiente, pH e temperatura, todos os quais são modificados com uso de máscara e retenção de biofluidos, o que favorece a instalação do quadro da acne. Ademais, para que sejam eficazes, as máscaras devem ser utilizadas de forma compacta contra a pele, sem lacunas. E seu uso contínuo por períodos prolongados pode levar à formação de um microambiente com aumento de temperatura e umidade, desencadeando alterações na exposição da pele favoráveis ao desenvolvimento de novo ou agravamento da acne, promovendo o termo "maskne" a tais alterações. Acredita-se que a acne em máscara seja um subtipo de acne mecânica, embora vários outros fatores estejam implicados em sua patogênese (TEO, 2021).

Dessa forma, devido à ausência de trabalhos anteriores que compilasse as informações já disponíveis sobre a correlação entre a referida medida protetiva e o surgimento de alterações tegumentares, esse estudo buscou identificar o desenvolvimento da acne vulgar entre as principais dermatoses associadas ao uso prolongado das máscaras de proteção facial, bem como evidenciar os aspectos que influenciaram no desenvolvimento dessas afecções e, protocolos de tratamento propostos que minimizem seus efeitos e que restabelecem o equilíbrio da pele.

## 2 METODOLOGIA

Para realização deste trabalho foi realizado um estudo de revisão baseado em levantamentos de dados do SciELO, Pubmed e Science utilizando os descritores: acne, coronavírus e consequências, COVID-19, patologias dermatológicas, maskne entre outros termos correlatos. A seleção dos artigos ainda incluiu temas que continham em sua intitulação: "acne relacionada à máscara", "dermatose facial e máscara". Ensaio clínico, revisões, séries de casos e relatos de casos foram incluídos. Foram consultados 50 artigos e selecionados 37, e os critérios de inclusão foram: artigos em português e inglês que tratassem do desenvolvimento da acne vulgar como consequência de alterações na microbiota da pele e sua capacidade higroscópica. Os critérios de exclusão foram: artigos duplicados, teses, dissertações, monografias e resumos.

### 3 MASKNE

A acne vulgar compreende uma alteração de pele que afeta de 85 a 100% da população, podendo manifestar-se em qualquer fase da vida. Pode ser caracterizada pelo aparecimento de comedões, populares cravos, de formações papulares, também designadas espinhas ou ainda pústulas e nódulos em casos mais graves.

De acordo com Zórtea e cols (2022), sua etiopatogenia é crônica, atingindo o pilossebáceo e sendo evidenciado 4 fatores desencadenantes: hiperplasia sebácea, ação queratinocítica, colonização do *Propionibacterium acne* e *Staphylococcus albus*, ou ainda uma reação inflamatória local.

Maskne é uma forma de acne mecânica que surgiu em decorrência da pandemia de COVID-19, da qual anteriormente, era associada ao uso de capacetes ou equipamentos de proteção individual (SPIGARILO et al., 2022).

Devido ao uso prolongado de máscara associada a ação queratinocítica de obstrução do folículo, a população vem apresentando um crescente relato de casos da acne vulgar, acompanhado da oleosidade da pele. Sendo ainda descrito, que o uso da máscara promove um acúmulo de umidade abaixo da desta e por conta disso a infecção bacteriana fica suscetível estimulando ainda riscos de infecções fúngicas (WHO, 2020).

Dermatologistas descrevem as lesões cutâneas maskne como lesões inflamatórias cutâneas causadas por lesão mecânica. Histologicamente a acne de lesão mecânica é idêntica a acne vulgaris, porém pelo fato do uso constante da máscara e a ação queratinocítica, pode se tornar um processo crônico (DRENO et al., 2015).

É certo que os casos de maskne vem aumentando devido ao uso da máscara, visto que, pessoas que não apresentavam relatos ou desenvolvimento da acne vulgaris, vem relatando a presença dessa patologia. E, apesar da afecção ainda não ser totalmente elucidada, as dermatoses faciais já eram registradas em profissionais da saúde que utilizavam máscara em ambiente de trabalho por longos períodos (GOMOLIN; CLINE; RUSSO, 2020; HU et al., 2020).

O termo maskne abrange a acne e também outras lesões faciais causadas por máscaras, como coceira, ressecamento e dermatite de contato. As lesões não

inflamatórias, as inflamatórias e a rosácea são provocadas pelo uso das máscaras, sendo uma consequência do COVID-19. O quadro de rosácea foi relatado em profissionais de saúde que usaram máscaras por mais de oito horas. A acne e a rosácea foram descritas como verdadeiros fenômenos de Koebner - que é caracterizado pelo aparecimento de lesões cutâneas típicas de uma dada dermatose inflamatória numa área onde a pele foi lesionada por agentes mecânicos, químicos ou biológicos - relacionados ao uso de máscara devido a vários fatores que atuam sobre o sistema pilossebáceo (DAMIANI et al., 2021).

Vale ressaltar aqui, que o estrato córneo tem um papel importante na formação e manutenção da barreira de permeabilidade e na ação antimicrobiana, atuando na defesa da pele. Sua principal função está relacionada a ação de proteção da pele frente aos diversos agentes externos, no entanto, o contato contínuo com esses agentes pode resultar em um desequilíbrio de sua função e gerar respostas inflamatórias, sendo descrito por estudos que tais alterações são potencialmente geradas pelo contato direto e duradouro das máscaras de proteção facial (HUA et al., 2020; LIN et al., 2020; SZEPIETOWSKI et al., 2020).

Entre os diversos estudos analisados, foram destacadas como principais alterações tegumentares o prurido, a dermatite de contato, a acne e o eritema. Ficando evidente pelos trabalhos realizados, que as dermatoses, geradas pelo uso da EPI, estão associadas principalmente à oclusão, que traz um ambiente quente e úmido propício ao desenvolvimento das alteração, hiperpigmentação na área (GIACALONE et al., 2021; HU et al., 2020).

Sugere-se que o possível fator desse surto localizado em particular, seja devido ao contato com a fricção contínua do material da máscara na pele e o seu uso prolongado, favorecendo assim o aumento da temperatura e o microambiente úmido na superfície da pele, ocasionando a alteração da produção de sebácea e consequentemente a sua microbiota de superfície. Devido ao uso prolongado de máscara associada a ação queratinocitária de obstrução do folículo, a população vem relatando o aumento da acne vulgar e a oleosidade da pele. Em 09 de julho de 2020 no jornal "Wrbl.com" informou o novo termo "Maskne" atribuído pela Grand Strand Dermatology em Myrtle Beach. Ainda na mesma notícia afirmam que as bactérias causadoras da acne, preferem a máscara pois causa um acúmulo de umidade abaixo

da máscara e por conta disso a infecção bacteriana se prolifera, em alguns casos até mesmo fungos (WRBL, 2020).

O estresse psicológico e os distúrbios do sono estão na atual pandemia alterando significativamente a homeostase da pele, desencadeando os mecanismos responsáveis pela acne. O sono insuficiente aumenta os níveis de cortisol e a desregulação do sebo, resultando em um aumento nas citocinas pró-inflamatórias do estresse oxidativo. Além disso, o uso de máscaras resulta em maior concentração de CO<sub>2</sub> na superfície transepidérmica, o que pode alterar a biomecânica, desencadeando ou agravando a acne. A última via comum, envolvendo uma fusão de fatores e extrínsecos, pode desencadear ou agravar a acne vulgar (XERFAN et al., 2021).

### 3.1 Etiopatogenia e Correlações da Acne Vulgar

A acne vulgar é uma das dermatoses mais frequentes na população em geral, onde afeta de 85 a 100% da população em qualquer fase da vida, tendo como característica os comedões (populares cravos), as pápulas (popular espinhas) e nos casos mais graves pústulas e nódulos (COSTA, 2008).

A etiopatogenia da acne é crônica e atinge o folículo pilosebáceo, podendo ser evidenciado quatro fatores desencadeantes: Hiperplasia sebácea: Característico uma hiperseborréia sobre influência hormonal. Ação queratinocítica: Uma condição de obstrução do folículo piloso. Colonização do *Propionibacterium acne* e *Staphylococcus albus*: Conseqüentemente alterando lipídeos e sebo, gerando ação pró inflamatória. Reação inflamatória: Mediadores inflamatórios na parede da glândula sebácea, responsável pelas lesões inflamatórias (BRASIL, 2019).

Os dois primeiros fatores são os principais responsáveis pela formação das lesões retencionais, os comedões, os quais constituem a lesão elementar. Eles podem ser fechados, denominados como comedão branco, ou podem ser abertos, demoninados como comedão negro. Os comedões constituem a lesão elementar da acne, pois é neles que se produzem os fenômenos que conduzem à formação das lesões inflamatórias (FIGUEIREDO et al., 2011).

A compressão dos ductos sebáceos acontece antes do desenvolvimento de lesões de acne, sendo resultado da hiperproliferação epitelial folicular e retenção dos queratinócitos, que formam o tampão de queratina no infundíbulo reticular. Sua causa

é desconhecida, mas a origem de sua formação pode estar sob a influência dos andrógenos. Outra possibilidade é que esse fato tenha ocorrido devido a uma anomalia nos lipídeos sebáceos, resultando em hiperproliferação relativa de células da córnea (TASSINARY, 2019).

Manifestações de comedão podem ocorrer em função da deficiência localizada de ácido linoleico no ducto pilossebáceo. O ácido linoleico é absorvido através do plasma das células das glândulas sebáceas, onde é diluído devido ao grande volume de sebo nos ductos. As lesões de acne se desenvolvem em pequenas glândulas sebáceas dilatadas, contendo uma mistura de epitélio folicular queratinizado, sebo, bactérias e levedura saprófita. A acne ocorre mais frequentemente durante fase pré-menstruação, característica clínica reconhecida, que também podem ser explicadas pela mudança no tamanho do ducto e na retenção do fluido que invade a queratina (TASSINARY, 2019). Ainda descrito pelo autor, *Staphylococcus epidermidis* e *Propionibacterium acnes* são bactérias comuns na superfície da pele em áreas propensas a acne.

Durante a sua ação, as bactérias produzem porfirinas que reagem com o oxigênio molecular produzindo radicais livres, ocasionando inflamação da pele. Pesquisas mostraram níveis reduzidos de porfirina em peles relativamente saudáveis em relação a peles acneicas ou as que respondem a tratamentos de acne. *Propionibacterium acnes* pode estimular o processo inflamatório com a liberação de citocinas através de receptores TLR2 e TLR4, a próxima via é aumentar a produção de interleucina IL1B, que induz a produção da IL6, IL8 e IL12. A estimulação intermitente da proteína ativadora 1 pode induzir a formação das metaloproteinases (MMPs) (JUGEAU et al., 2005).

Uma característica comum entre os pacientes com acne é a presença de lipoperóxidos, especificamente devido à peroxidação de esqualeno e redução dos níveis de vitamina E, que é o principal antioxidante do sebo. Outro importante regulador da produção de sebo é a vitamina D (TASSINARY, 2019).

Estudos salientam a importância da desregulação das vias relacionadas com o FoxO1, insulina e IGF-1 no aparecimento da acne. Esta desregulação parece ser estimulada principalmente pela dieta, IMC aumentado e resistência à insulina (MELNIK BC et al., 2015). Esses estudos têm evidenciado a importância e as

consequências que as alterações na IGF-1 e hormona de crescimento podem ter na pele, relacionando-se não apenas com o aparecimento da acne vulgaris, mas sobretudo com a sua severidade.

Em um estudo de caso controlado, avaliou os níveis séricos de hormona de crescimento e IGF-1 em pacientes com acne severa e comparou-os com os níveis de indivíduos saudáveis e com acne moderada e leve, mostrando um aumento significativo da hormona de crescimento e da IGF-1, e consequentemente de vários androgénios, nos doentes com acne severo (SALEH et al., 2012).

Independentemente da IGF-1 e da hormona de crescimento desencadearem a inflamação e a comedogénese, são os fatores de transcrição da célula da glândula sebácea os responsáveis pela regulação fina desse estímulo, de acordo com a sinalização que obtêm da nutrição do indivíduo (AGAMIA et al., 2016).

Entretanto, a realidade no mundo ocidental é bem diferente. Um estudo realizado recentemente visou determinar a prevalência e os fatores de risco de acne na população infantil coreana, demonstrando que as crianças que consumiam chocolates e doces, próprios de uma dieta ocidental, tinham uma prevalência mais elevada de Acne vulgaris. A pesquisa mostrou também no seu estudo de caso controle que os 44 jovens adultos com acne questionados sobre os seus hábitos dietéticos têm uma dieta com maior ingestão de glícidos (carga glicémica:  $175 \pm 35$ ) comparado com os 44 indivíduos do controle (carga glicémica:  $122 \pm 28$ ), sendo essa diferença significativa estatisticamente (ISMAIL et al., 2012).

Segundo a literatura, as 3 maiores classes de alimentos que podem promover a acne incluem os carboidratos, os ácidos gordos e leite e derivados (MELNIK et al., 2015). Esses estudos produzidos ao longo de vários anos definem que os carboidratos têm um papel essencial na patogénese da acne vulgaris. Uma alimentação altamente glicémica potencializa a sinalização do IGF-1, que estimula o mTORC1, inibe o FoxO1 e estimula o SREBP-1c, em contra partida, uma dieta com baixa glicemia reduz a expressão de SREBP-1c na pele de pacientes com acne. Por isso o alto consumo glicémico é responsável por modificar a composição e quantidade do sebo, potenciando a inflamação e a comedogénese (MELNIK et al., 2015). Sendo também descrito nesse estudo, que a acne vulgaris é intensificada com o consumo de gordura saturada como o ácido palmítico, que ativa o mTORC1 e melhora com o consumo de

ácidos gordos ricos em ômega 3, assim como o ácido eicosapentaenóico presente no peixe.

Em uma das revisões literárias, Melnik aponta que o leite, apesar de já conter IGF-1, tem principalmente uma ação hepática promotora da produção de IGF-1. O elevado consumo de leite está também coparticipante no aparecimento precoce da puberdade e à persistência da acne na terceira década de vida, pela produção aumentada de IGF-1 hepática. Assim, o consumo de derivados do leite, como o leite magro, queijo e iogurte têm um efeito similar ao do leite no aparecimento da acne. Existe, ainda, a proteína whey, também derivada do leite, que parece contribuir de forma importante na patogênese da acne (JUGEAU et al., 2005).

### 3.2 Alteração do microbioma

Microbiota refere-se a qualquer microrganismo presente no corpo, como o intestino, o nariz, a mucosa oral, a mucosa pulmonar, o couro cabeludo e a pele. A microbiota cutânea é dividida em dois grupos, o grupo dos microrganismos residentes, dos quais são microrganismos fixos, e o grupo da microbiota central que são encontradas na pele. Aqui, a pele pode ser considerada um meio de cultura, pois sua composição é consequentemente derivada da nossa genética, alimentação, estilo de vida e da região onde vivemos. Cada pele humana é única, dessa forma tem-se microbiotas diferentes na área da pele. Mudanças na temperatura podem ser parcialmente atribuídas à viscosidade do sebo. A alta temperatura pode aumentar a circulação cutânea, o que aumenta a taxa de metabolismo da glândula de excreção de sebo (AMECI, 2018).

Além disso, devem ser reforçadas as variações anatômicas intrapessoais na microbiota da pele, como a diversidade e a abundância da flora microbiana cutânea, variando entre sexo, idade, as estações do ano, etnia, e também incluindo lesões fisiológicas e ansiedade psicológica, colaborando nas alterações endócrinas e metabólicas no interior da pele (JEADV et al., 2016).

Diante desse cenário, a alteração do microbioma da pele saudável associado ao uso de máscara, gerou implicações em várias condições dermatológicas, como eczema, acne, dermatite perioral e disbiose bacteriana.

A colonização da *Staphylococcus albus* tem sido associada em vários estudos

envolvendo a patogênese da acne. A mais recente compreensão da patogênese da acne foi alterada de *Propionibacterium acnes* para *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*), onde sua colonização se dá nos folículos sebáceos, gerando a foliculite. A foliculite é uma complicação comum da acne e pode desenvolver erupções pustulares, necessitando de tratamento com antibióticos de amplo espectro. A disbiose da microbiota da pele leva à seleção de bactérias virulentas e patogênicas, cepas de *C. acnes* e ativação da imunidade inata causando inflamação cutânea (DRENO et al., 2016).

A restrita correlação entre a alta temperatura e a acne pode ser explicada pelo efeito da temperatura mais alta na taxa de produção de sebo. A produção sebácea aumenta em 10% para cada 1°C de aumento. Além disso, o aumento da umidade desempenha um papel oclusivo do poro, causando irritação e inchaço da pele. Tanto a sudorese, quanto o aumento da umidade podem desencadear a obstrução aguda e agravar a acne (TEO, 2021).

O uso da máscara facial reproduz as mesmas alterações na pele, pois contribui com o aumento da temperatura do ar entre a pele e a máscara. A restrição da área com maior aderência à pele, favorece o aumento da retenção de suor, principalmente em indivíduos afetados por hiperidrose. A redução da recirculação de ar privilegia a deposição de cabelos úmidos e toxinas exaladas (SCARANO et al., 2020).

Portanto, as máscaras podem produzir um microclima semelhante a uma estufa, favorecendo assim a microbiota que contribui para o desenvolvimento da acne. Um estudo realizado em 20 participantes teve como objetivo comparar a temperatura da pele facial e o fluxo de calor usando equipamentos médico-cirúrgicos. Houve diferença estatisticamente significativa na umidade, calor, dificuldade respiratória e desconforto. As imagens de termografia infravermelha demonstraram mudanças de temperatura na região perioral e lábio superior imediatamente após a remoção da máscara, em comparação com as condições basais em ambos os tipos de EPI, enquanto não foram observados aumentos de temperatura na testa, bochechas e nariz/boca (GIACALONE et al., 2021; HU et al., 2020).

Quanto ao pH da pele, não há consenso se o pH mais baixo contribui para o desenvolvimento da acne. No entanto, alterações no pH contribuem para a disbiose e, assim, promovem o desenvolvimento desta doença. Finalmente, o uso de máscara

pode criar uma nova área intertriginosa onde diferentes tipos de microrganismos podem crescer (GIACALONE et al., 2021; HU et al., 2020).

### **3.3 Impacto Psico-social**

Enquanto uma doença dermatológica crônica, a acne predispõe o indivíduo aos incômodos decorrentes, assim como ocorre em todas as doenças cutâneas, levando ao forte impacto no que está gravemente prejudicada em seu estado mental, atividades diárias e relações sociais. Existem dois tipos de fatores que contribuem para esse fato: o resultado de fatores internos como imagem corporal e autoestima e os fatores externos como estigma e rejeição social de que esses pacientes são vítimas, e as desastrosas crenças, mitos e preconceitos associados às doenças de pele, sujeira, punição, culpa, moralidade e comportamento desviantes (FIGUEIREDO et al., 2011).

É considerada uma dermatose significativa, abrangendo um espectro de manifestações desde o adolescente genuinamente despreocupado da acne extensa e levado à consulta pelo opinativo e rígido, até o paciente claramente dismorfofóbico, sem auto-estima e socialmente recluso com lesões raras e mínimas. que se manifesta de forma hostil (COSTA; ALCHORNE; GOLDSCHMIDT, 2008).

Avaliar o impacto da acne em um determinado paciente é difícil de julgar clinicamente, pois há uma disparidade entre a gravidade/extensão da acne, tal que é clinicamente objectivável e o sofrimento psicológico resultando o impacto psicossocial com frequência notável. Portanto, é necessário um forte investimento na relação médico-paciente, baseado em uma abordagem não mecanicista, empática, atenta e expectante, permitindo ao paciente expressar explicitamente suas ansiedades ou usando a avaliação da qualidade de vida. Isso permitirá o diagnóstico preciso de um transtorno psiquiátrico/psicológico grave, bem como a avaliação do impacto da doença no núcleo familiar (FIGUEIREDO et al., 2011).

### **3.4 Relação com o sono**

Durante a pandemia, o sono foi significativamente afetado, essa deficiência pode influenciar o aparecimento da acne, um distúrbio da pele relacionado à função

do sono, afetando a regulação hormonal. A pandemia teve um impacto negativo significativo na rotina das pessoas, incluindo maus hábitos alimentares, autocuidado e autoestima, levando a deficiências físicas e psicológicas (XERFAN et al., 2021). Esses pesquisadores mostraram que o sofrimento pandêmico, levaram a rotinas alteradas, mudanças nos hábitos alimentares que contribuíram para o comprometimento da homeostase da pele.

Estudos inferem que o sono desempenha um papel crucial no mecanismo de recuperação do corpo, que pode desempenhar um papel no surto de acne. O sono insatisfatório e a privação do sono podem ter um impacto único na regulação endócrina, incluindo a pele e, portanto, podem desencadear as vias da acne (COSTA; ALCHORNE; GOLDSCHMIDT, 2008).

No quadro patológico da acne, o desequilíbrio hormonal influencia diretamente, o que explica sua alta prevalência na população adolescente. A desregulação hormonal em outras fases da vida também pode estar ligada ao aparecimento da acne. O cortisol aumentado é caracterizado pela ausência de condições estressantes que possam promover um estado inflamatório, co-participando no aumento das lesões de acne (BISSONNETTE et al., 2015).

Além disso, os indivíduos que apresentam maior desconforto com o sono podem apresentar alteração na produção de sebo decorrente da modificação nos níveis de testosterona. Estudos apontam que a perturbação do sono está relacionada ao aumento do estresse oxidativo, agravando o estado inflamatório que implica no desenvolvimento da acne (BISSONNETTE et al., 2015).

### **3.5 Prognóstico e Tratamento**

As recomendações para suportar os efeitos do uso de máscaras por longos períodos são essenciais para a saúde e conforto de cada indivíduo, em especial para profissionais da área da saúde, que precisam usar máscaras por um longos períodos. Existem várias medidas preventivas que podem ser implementadas, como o intervalo de tempo no uso frequente da máscara para encurtar a duração e a exposição da máscara (REBMANN et al., 2013).

Fazer a substituição frequente da máscara também é recomendado, após quatro horas para máscara cirúrgica e três dias para máscara N95, com um intervalo

de 15 minutos após 2 horas de uso frequente da máscara (DESAI et al., 2020).

Medidas preventivas como aplicação de hidratante para o controle da produção sebácea ou aplicação de curativo antes de usar uma máscara também são sugeridas para diminuir a secreção de sebo, mas deve-se assegurar que esses veículos não interfiram no lacre da máscara, reduzindo a proteção contra o vírus (DESAI et al., 2020).

Como não existem diretrizes aprovadas para o tratamento da maskne, então as instruções são retiradas do tratamento da acne, como realizado na prática clínica. A escolha depende da morfologia da lesão da acne (pápulas, pústulas e comedões) e da gravidade da acne (leve, moderada, grave). Como regra geral, a acne leve deve ser tratada com produtos tópicos; combinações de agentes tópicos ou a combinação de tratamentos tópicos e sistêmicos, que são sugeridas para acne moderada, enquanto formas graves geralmente requerem tratamento sistêmico e tópico (ZAENGLEIN et al., 2020).

Os produtos dermocosméticos para o cuidado diário da pele são altamente recomendados devido ao seu efeito sinérgico com os agentes farmacológicos e ao seu papel na terapia de manutenção e no controle dos efeitos colaterais. Nos diferentes estudos são propostos esquema terapêutico para maskne adaptado das diretrizes de terapia da acne em comparação com o que é mencionado na literatura sobre maskne (ZAENGLEIN et al., 2020). Em todos os casos, os produtos dermocosméticos para cuidados diários com a pele são recomendados devido aos seus efeitos sinérgicos com os agentes farmacológicos e ao seu papel na terapia de manutenção e gestão de eventos adversos.

A American Academy of Dermatology Association também sugere evitar novos cuidados com a pele que possam irritar a pele ou aumentar o uso de produtos fortes, como retinóides, peelings químicos e esfoliantes.

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A partir do presente estudo, foi determinado que as alterações globais causadas pelo uso de uma máscara de proteção se devem principalmente à pressão, bloqueio das glândulas sebáceas e possíveis reações alérgicas causadas pela máscara.

Máscaras e todas as condições de pele associadas ao uso prolongado de máscaras são doenças dermatológicas emergentes. Nesta revisão, propomos critérios diagnósticos para acne associada a máscara e abordamos o diagnóstico diferencial de condições de pele induzidas por máscara. Em termos de técnicas de tratamento, o mascaramento requer o uso de cosméticos de cuidado da pele adequados para peles com tendência acneica e o uso de medicamentos tópicos, nomeadamente agentes sebo-reguladores e emolientes.

Portanto, é importante conscientizar a população sobre a importância do tratamento precoce das alterações radicais, para que não evoluam para quadros mais graves. Esses cuidados são importantes, pois essas mudanças podem impactar negativamente na qualidade de vida de uma população, seja nos aspectos físicos e/ou psicológicos, nos relacionamentos, no trabalho cotidiano e nos sistemas sociais, ou mesmo induzir ao uso excessivo de EPI, o que reduz a eficiência.

Em pacientes com acne, a disfunção da via IGF-1/Fox-01/mTORC1/SREBP-1c é o principal mecanismo na patogênese da acne, embora a atividade de diferentes citocinas não possa ser subestimada. A literatura sugere que dietas ocidentais, sobrepeso/obesidade e resistência à insulina são os principais fatores etiológicos desse distúrbio.

Concluiu-se também que uma grande quantidade de alimentos na dieta ocidental é o mais forte promotor da patogênese da acne e que, no caso de uma dieta hiperglicêmica de carboidratos, uma redução no consumo levará a uma redução nos sintomas. No entanto, são necessárias mais pesquisas sobre a influência das propriedades protetoras de outros alimentos, como o uso de  $\omega$ 3. O uso de leite e derivados vem ganhando destaque na literatura, concluindo-se, de acordo com inúmeros estudos e revisões sistemáticas, que promove o aparecimento da acne de diversas formas.

A obesidade adulta e a síndrome metabólica estão implicadas na fisiopatologia da acne, concluindo-se que, além dos mecanismos citados anteriormente, a leptina desempenha um papel importante nas condições inflamatórias comuns nessas doenças. No entanto, há mais pesquisas sobre o papel de outras adipocinas, como a adiponectina, no aparecimento da acne, embora pesquisas mais atuais sugiram sua importância.

Assim, a fisiopatologia da acne depende de mecanismos complexos e mutuamente influenciados que, embora sejam compreendidos individualmente, são de difícil compreensão quando examinados em conjunto. No entanto, ainda é importante estudar a influência de muitos fatores ambientais e genéticos sobre esses mecanismos moleculares, pois permite negar ou confirmar suas causas.

## REFERÊNCIAS

AGAMIA N, ABDALLAH D, SOROUR O, MOURAD B, YOUNAN D. Skin Expression of Mammalian Target of Rapamycin and Forkhead Box Transcription Factor O1, and Serum Insulin-Like Growth Factor-1 in Patients with Acne Vulgaris and Their Relationship with Diet. **Br J Dermatol.**;174:1299-307, 2016.

American Academy of Dermatology Association. 9 maneiras de prevenir problemas de pele com máscara facial. American Academy of Dermatology Association. Disponível em: <https://www.aad.org/public/daily-care/skin-care-secrets/face/prevent-face-mask-skin-problems>. <https://doi.org/10.1016/j>.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ORIENTAÇÕES GERAIS – Máscaras faciais de uso não profissional. Disponível em: < <https://agenciabrasilia.df.gov.br/wp-content/uploads/2020/04/NTM%C3%A1scarasTecido-Anvisa.pdf-2.pdf> >. Acesso em: 06 out. 2022.

BARROS, A.B; et. al. Acne vulgar: aspectos gerais e atualizações no protocolo de tratamento. **BWS Journal**, 2020.

BISSONNETTE R, RISCH JE, MCELWEE KJ, et al. Mudanças na testosterona livre sérica, padrões de sono e atividade da 5-alfa-redutase tipo I influenciam as mudanças na excreção de sebo em mulheres. **Skin Res Technol.**; 21: 47-53, 2015.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Protocolo de manejo clínico para o novo coronavírus (2019- nCoV). [cited 2020 set 15]. Available from: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2020/fevereiro/11/protocolo-manejocoronavirus.pdf>.

COSTA, A.M.; ALCHORNE, A.C.M.M; GOLDSCHMIDT, M.C.B.B. Fatores etiopatogênicos da acne vulgar. **An. Bras. Dermatol.** 83 (5), 2008.

CHU, D. K. et al. Physical distancing, face masks, and eye protection to prevent person-to-person transmission of SARS-CoV-2 and COVID-19: a systematic review and metaanalysis. **The Lancet**, v. 395, n. 10242, p. 1973-1987, 2020.

DAMIANI G, GIRONI LC, GRADA A et al. As máscaras relacionadas ao COVID-19 aumentam a gravidade da acne (máscara) e da rosácea (máscara rosácea): estudo prospectivo multicêntrico, real, telemédico e observacional. **Dermatol Ther.**, ;34:e14848, 2021.

DEMIREL ÖYÜT N, KUTLU Ö, ERBAŸCŸ E. Tratamento oral com isotretinoína em pacientes com acne vulgar durante a pandemia de COVID-19: um estudo de coorte retrospectivo em um hospital terciário. **J Cosmet Dermatol.** 2021.

DESAI SR, KOVARIK C, BROD B, JAMES W, FITZGERALD ME, PRESTONA, et al. COVID-19 e equipamentos de proteção individual: Tratamento e prevenção de doenças da pele relacionadas ao uso ocupacional de equipamentos de proteção individual. **J Am Acad Dermatol.**; 83 (2): 675-7, 2020.

DRENO, B; Et, al. Lesões cutâneas causadas por lesão mecânica. **European Journal Dermatology**, Europa, v. 25, n. 2, p. 114-121, jun./2015.

GIACALONE, S. et al. Facial dermatoses in the general population due to wearing of personal protective masks during the COVID-19 pandemic: first observations after lockdown. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 46, n. 2, p. 368-369, 2021.

DRENO B, ARAVIISKAIA E, BERARDESCA E, et al. Microbiome em pele saudável, atualização para dermatologistas. **J Eur Acad Dermatol Venereol**; 30: 2038–2047, 2016.

FIGUEIREDO, A. et al. Avaliação e tratamento do doente com acne . **Revista Portuguesa de Clínica Geral**, Portugal, v. 27, n. 1, p. 59-65, 2011.

GIACALONE, S.; MINUTOS, A.; SPIGARIOLO, CB; PASSONI, E.; NAZZARO, G. Dermatoses faciais na população geral por uso de máscaras de proteção individual durante a pandemia de COVID-19: primeiras observações após o bloqueio. **Clin. Exp. Dermatol.**, 46, 368-369, 2021.

HU, K. et al. The adverse skin reactions of health care workers using personal protective equipment for COVID-19. **Medicine**, v. 99, n. 24, 2020.

HUA, W. et al. Short-term Skin Reactions Following Use of N95 Respirators and Medical Masks. **Contact Dermatitis**, 2020.

ISMAIL NH, MANAF ZA, AZIZAN NZ. High Glycemic Load Diet, Milk and Ice Cream Consumption Are Related to Acne Vulgaris in Malaysian Young Adults: A Case Control Study. **BMC Dermatol.**;12:13, 2012.

KOSASIH LP. MASKNE: Alargamento de Acne Induzido por Máscara Durante a doença do Coronavírus-19. O que é e como administrar? Acesso aberto **Maced J Med Sci.** 31 de outubro de 2020.

LAN J, SONG Z, MIAO X, et al. Danos na pele entre profissionais de saúde que gerenciam a doença coronavírus-2019. **J Am Acad Dermatol.**; 82: 1215-1216, 2020. LUNA, Microbioma da pele do PC com o passar dos anos. **Sou. J. Clin. Dermatol.**, 21 (Suplemento S1), 12–17, 2020.

MARRAHA, F.; AL FAKER, I.; GALLOUJ, S. A Review of the Dermatological Manifestations of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). **Dermatology research**

**and practice**, v. 2020, 2020.

MELNIK BC. Linking Diet to Acne Metabolomics, Inflammation, and Comedogenesis: An Update. *Clin Cosmet Investig Dermatol.*;8:371-88, 2015.

PAWLOWSKI A. Coronavirus outbreak leads stores to sell out of face masks 2020 [acesso em 24 Set 2020]. Disponível em: <https://www.today.com/health/coronavirusoutbreak-leadsstoreselloutfacemaskscanmaskst172730>.

REBMANN T, CARRICO R, WANG J. Fisiológico e outros efeitos e conformidade com o uso de respirador de longo prazo entre enfermeiras de unidades de terapia intensiva médicas. *Am J Infect Control.*; 41 (12): 1218-23, 2013.

Revista Internacional de Pesquisa em Dermatologia Ramesh A et al. **Int J Res Dermatol.** 2021 janeiro;7(1):48-52.

SALEH BO. Role of Growth Hormone and Insulin-Like Growth Factor-I in Hyperandrogenism and the Severity of Acne Vulgaris in Young Males. *Saudi Med J.* 2012;33:1196-200.

SARDANA K, SHARMA RC, SARKAR R. Variação sazonal no mito ou realidade da acne vulgaris. **J Dermatol.**; 29 (8): 484-8, 2002.

SCARANO, A.; INCHINGOLO, F.; LORUSSO, F. Temperatura da Pele Facial e Desconforto ao Usar Máscaras Faciais Protetoras: Térmicas Avaliação por imagem infravermelha e mãos movendo a máscara. **Int. J. Ambiente. Res. Saúde Pública**, 17, 4624, 2020.

SZAPIETOWSKI, J.C.; MATUSIAK, L.; SZEPIETOWSKA, M.; KRAJEWSKI, P.K.; BIAŁYNICKIBIRULA, R. Face mask-induced itch.:A Self-questionnaire Study of 2,315 Responders During the COVID-19 Pandemic. **Acta Derm Venereol** 2020; 100: adv 00152.

TASSINARY, João. **Raciocínio clínico aplicado à estética facial : com estudos de casos e material em realidade aumentada** / João Tassinary, Marialva Sinigaglia e Giovana Sinigaglia; prefácio Tiago Mário. Lajeado : Estética Experts, 328 p., 2019.

TEO WL. Considerações de diagnóstico e gerenciamento para 'Maskne' na era de COVID-19. **J Am Acad Dermatol**; 84: 520-521, 2021.

XU, H.; LI, H. Acne, o Microbioma da Pele e Tratamento Antibiótico. **Sou. J. Clin. Dermatol.**, 20, 335-344, 2019.

WANG, M.W.; ZHOU, M.Y.; JI, G.H.; YE, L.; CHENG, Y.R.; FENG, Z.H. et al. Mask crisis during the COVID19 outbreak. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, 24: 3397–3399; 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. (2020). Advice on the use of masks in the context of COVID-19: interim guidance, 6 Set. 2021. **World Health Organization**.

<https://apps.who.int/iris/handle/10665/331693>.

WRBL.COM. **'Maskne' is the new acne and it's caused by wearing a mask.**

Disponível em: <https://www.wrbl.com/news/health/coronavirus/maskne-is-the-newacne-and-its-caused-by-wearing-a-mask/>.

ZAENGLEIN, AL; PATHY, AL; SCHLOSSER, BJ; ALIKHAN, A.; BALDWIN, HE; BERSON, DS; BOWE, WP; GRABER, EM; HARPER, JC; KANG, S.; et al. Diretrizes de cuidados para o manejo da acne vulgar [correção publicada aparece em]. *Geléia. Acad. Dermatol.* **2016**, 74, 945-973.e33; Errata em *J. Am. Acad. Dermatol.*, 82, 1576, 2020.

# ABORDAGENS DA TOXINA BOTULÍNICA NO TRATAMENTO DE DISFUNÇÕES

## APPROACHES TO BOTULINUM TOXIN IN THE TREATMENT OF DYSFUNCTIONS

Thayná de Souza Frachini<sup>1</sup>  
Karina de Almeida Gualtieri<sup>2</sup>

### RESUMO

A toxina botulínica está presente na história há mais de 60 anos e sua descoberta foi primeiramente associada ao botulismo, uma doença ocasionada pela bactéria *Clostridium botulinum*, caracterizada pela sintomatologia de paralisia muscular. Com os avanços da ciência e incentivo às pesquisas, diversos estudos levaram a descoberta de sorotipos com finalidades distintas, entre elas, o uso em tratamentos estéticos e disfunções como a rosácea, dores crônicas como a enxaqueca, disfunções da articulação temporomandibular (ATM), bruxismo e a hiperidrose. Objetivando uma abordagem acerca dos tratamentos e terapias que envolvem o uso da toxina botulínica, em especial o tipo A, o presente artigo traz uma revisão bibliográfica, de caráter descritivo reflexivo, fundamentado nas bases de dados *Index Medicus* (Medline), *Scientific Electronic Library On-line* (SciElo), da *Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde* (LILACS), buscando como descritores principais: toxina botulínica tipo A, disfunções estéticas ou não estéticas, fisiopatologia e tratamentos a fim de traçar um delineamento sobre suas aplicações. Ficando evidente aqui, seu uso médico e estético aprimorado após a constatação que seu efeito de paralisia muscular está associado a inibição da liberação de acetilcolina, impedindo a contração dos músculos e, como consequência desse efeito, seu uso torna-se satisfatório em doenças originadas por desordem ou excesso da contração muscular, controles de sudorese excessiva, alterações vasculares, mas especialmente pelos seus efeitos estéticos, como a prevenção de rugas estáticas frente ao processo de envelhecimento.

**Palavras-chaves:** acetilcolina; contração muscular; disfunções; toxina botulínica.

### ABSTRACT

Botulinum toxin has been present in history for over 60 years and its discovery was first associated with botulism, a disease caused by the bacterium *Clostridium botulinum*, characterized by the symptoms of muscle paralysis. With scientific advances and research incentives, several studies have led to the discovery of serotypes with different purposes, among them, the use in aesthetic treatments and disorders such as rosacea, chronic pain such as migraine, temporomandibular joint (TMJ) disorders, bruxism and hyperhidrosis. Aiming at an approach to the treatment

<sup>1</sup> Graduando do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil), Londrina/PR, Brasil. E-mail: thaysouzafrachini@edu.unifil.br

<sup>2</sup> Orientadora e Docente Titular do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Filadélfia (UniFil), Londrina/PR, Brasil. E-mail: karina.gualtieri@unifil.br

and therapies that involve the use of botulinum toxin, especially type A, this article presents a bibliographical review, with a reflexive descriptive character, based on the Index Medicus (Medline), Scientific Electronic Library On -line (SciElo), from the Latin American and Caribbean Literature on Health Sciences (LILACS), seeking as main descriptors: botulinum toxin type A, aesthetic or non-aesthetic disorders, pathophysiology and treatments in order to outline their applications . Being evident here, its medical and aesthetic use improved after the verification that its effect of muscular paralysis is associated with the inhibition of the release of acetylcholine, preventing the contraction of the muscles and, as a consequence of this effect, its use becomes satisfactory in diseases caused by disorder or excess of muscle contraction, controls excessive sweating, vascular changes, but especially for its aesthetic effects, such as the prevention of static wrinkles in the face of the aging process.

**Keywords:** acetylcholine; muscular contraction; dysfunctions; botulinum toxin.

## 1 INTRODUÇÃO

A toxina botulínica (TxB) é produzida por uma bactéria anaeróbica denominada *Clostridium botulinum*. Essa toxina possui um mecanismo de ação muito peculiar e único, o que a tornou conhecida e utilizada em todo mundo, principalmente no meio médico (CAMPOS, 2016).

A TxB está presente na história há mais de 60 anos. Inicialmente seu uso foi atrelado como uma arma biológica, na Segunda Guerra Mundial, desde então, diversos estudos em torno dessa toxina vêm sendo realizados para elucidar seu mecanismo de ação. Além de seu uso como arma biológica e uso médico, a toxina é responsável por ocasionar uma doença em humanos conhecida como botulismo (CARVALHO; GAGLIANI, 2014).

O botulismo, no século 19, foi classificado como um problema de saúde pública e estava relacionado ao início do desenvolvimento de métodos de conservação de alimentos, salientando sua principal via de transmissão pela ingestão de alimentos mal conservados e contaminados pela bactéria em questão. Porém, após o aprimoramento das técnicas de conservação alimentar, o botulismo tornou-se uma doença rara (COLHADO et al., 2009).

Apesar de rara, essa doença ainda é responsável por alguns casos notificados no Brasil. O Ministério da Saúde, em um boletim epidemiológico do ano de 2021, relatou que no período de 2006 a 2021 foram notificados 413 casos suspeitos da doença. No ano de 2018, 45 casos de botulismo foram confirmados, sendo o maior

número desde 2006 (BRASIL, 2021).

Os principais sintomas envolvem uma paralisia flácida, de caráter simétrico e descendente, boca seca e náuseas. Além disso, podem estar relacionados com disfunção dos nervos cranianos provocando uma visão borrada. O diagnóstico da doença é dado através da incubação de cultivo anaeróbico e o tratamento é realizado com soro anti-botulismo (BRASIL, 2019).

Estruturalmente, a toxina botulínica apresenta duas cadeias: uma leve e uma pesada. A parte ativa da toxina é composta por uma única cadeia peptídica que apresenta 1295 aminoácidos. As duas cadeias são unidas por uma ligação dissulfídica e sua integridade é fundamental para a integridade da toxina e sua atividade biológica (CAMPOS, 2016).

Estudos mostram que além de agir inibindo a liberação de acetilcolina, a TxB também age em outros neurotransmissores, justificando seu sucesso no controle de sintomas de dor, por exemplo. Sabe-se que a TxB do tipo A atinge os terminais nervosos colinérgicos onde se liga, sendo internalizada e promove a inibição cálcio dependente da liberação do neurotransmissor resultando em seu efeito sobre a contração muscular. Fato este, observado e conhecido, no qual o restabelecimento da unidade motora se dá através de brotamentos que atingem a superfície muscular após um determinado período de tempo (SPOSITO, 2009; CAMPOS, 2016).

No tratamento da dor, a TxB apresenta grandes resultados de sucesso que excedem seu efeito de relaxamento muscular. Isso se deve a sua alta afinidade por receptores colinérgicos, o que causa inibição de outros neurotransmissores como a norepinefrina. Além de reduzir a concentração de glutamato (presente em processos inflamatórios) e também inibir a liberação da substância P, reduzindo o estímulo de liberação de peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (PRGC), um neuropeptídeo inflamatório (COLHADO et al., 2009).

Diante de todo o cenário apresentado, é destacado o mecanismo de ação da Txb, basicamente explicado pelo seu potencial de inibir a liberação da acetilcolina nos terminais nervosos, levando a uma depressão das contrações musculares, por isso seu uso é satisfatório em quadros patológicos caracterizados por excesso ou descontrole das contrações musculares (GOUVEIA; FERREIRA; ROCHA, 2020). Justificando assim, a busca de informações acerca de seu uso, de forma segura, bem

como técnicas que possam promover sua utilização com efeito terapêutico de sucesso em casos como: rosácea, enxaqueca, disfunções da articulação temporomandibular (ATM) e bruxismo. Além disso, foi possível observar que a TxB possui efeitos analgésicos devido ao bloqueio de CGRP, glutamato e substância P em neurônios trigeminais. Assim, trabalho teve como objetivo realizar uma abordagem acerca do uso da Toxina Botulínica no tratamento de algumas disfunções, enfatizando seu mecanismo de ação e aplicação em determinadas doenças.

## 2 METODOLOGIA

Para realização deste trabalho foi realizado um estudo de revisão concretizado através de uma revisão de literatura, de cunho descritivo e reflexivo, com base em um rastreamento junto à base de dados Scientific Electronic Library Online (SCIELO), National Library of Medicine National Institutes of Health (PUBMED), Biblioteca Virtual em Saúde: LILACS, BIREME, MEDLINE, utilizando os descritores uso terapêutico da toxina botulínica ( TxB ), mecanismos de ação da TxB em quadros patológicos neurológicos, uso da TxB para tratamento de DTM (disfunções temporomandibulares), entre outros termos correlatos. Foram consultados 50 artigos e selecionados 43 e os critérios de inclusão foram: artigos em português e inglês entre os anos de 2004 e 2022 que tratassem de uma abordagem dos aspectos envolvidos no uso da Toxina Botulínica para o tratamento de disfunções e os critérios de exclusão foram: artigos duplicados, teses, dissertações, monografias e resumos.

## 3 TOXINA BOTULÍNICA - TxB

A TxB, como o próprio nome diz, representa uma toxina produzida pela esporulação de uma bactéria gram-positiva e anaeróbica conhecida como *Clostridium botulinum*. O mecanismo de ação da TB consiste em determinar paralisia neuromuscular flácida transitória por meio do processo de denervação química (VASCONCELLOS; SOTERO; LAGE, 2019). Pode ser diferenciada em oito sorotipos nomeados como A, B, Cb, C2, D, E, F e G; sendo comercializadas, as toxinas tipo A e tipo B. Mas em destaque, a TxB-A é a mais utilizada desde sua aprovação pelo Food and Drug Administration (FDA), em 2002 (SANTOS; MATTOS; FULCO, 2015).

Conforme mencionado, a TxB é conhecida há décadas no âmbito médico,

inicialmente pela sua relação com o botulismo, que levou aos intensos estudos e conhecimento acerca de seu mecanismo de ação, proporcionando a constatação de que poderia ser usada para fins terapêuticos e estéticos (CARVALHO et al., 2016).

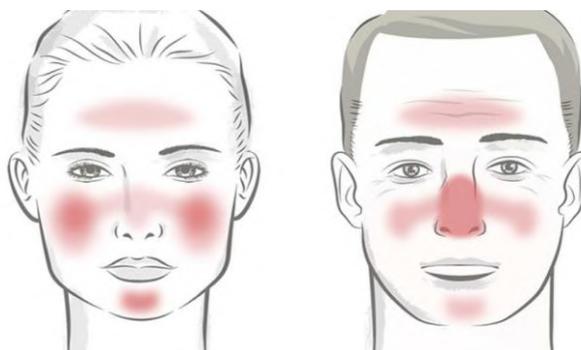
Algumas doenças e disfunções em que a TxB tem sido utilizada como forma de tratamento incluem a enxaqueca, a rosácea, disfunção da articulação temporomandibular (ATM), bruxismo e hiperidrose, além do destaque conferido ao rejuvenescimento pelas aplicações estéticas (GOUVEIA; FERREIRA; ROCHA, 2020).

Assim, por sua grande afinidade pelas sinapses colinérgicas e por promover o bloqueio da liberação de acetilcolina, a toxina botulínica é utilizada no tratamento de disfunções musculares já que em doses apropriadas provoca diminuição da contratatura, sem ocasionar paralisia total dos músculos em que é aplicada. Isso é possível devido ao fato da toxina botulínica do tipo A ter como alvo específico a proteína SNAP-25, uma proteína de membrana associada às vesículas exocíticas que desempenha um papel importante na liberação da acetilcolina. Esse efeito é superado por um brotamento axonal que ocorre de forma compensatória, levando ao retorno da contração muscular após um período de tempo (CAMPOS, 2016).

### **3.1 Uso da TxB-A no Tratamento da Rosácea**

Entre as disfunções vasculares está a manifestação da rosácea. Uma condição inflamatória crônica da pele, em que é possível observar e caracterizar a formação de rubor, telangiectasia, pápulas e pústulas em toda a região central da face (Figura 1). Apesar de não se conhecer totalmente sua patogênese, ela pode estar associada com uma desregulação do sistema imune inato, desequilíbrio da microbiota e uma sinalização vascular que não possui padrões normais, além de existir a predisposição genética (ANTÔNIO et al., 2018).

**Figura 1** - Representação esquemática das regiões faciais acometidas pela rosácea.



**Fonte:** INFOBAE (2020).

Estudos revelam que sua etiologia pode estar relacionada a fatores como distúrbios gastrointestinais e barreira epitelial prejudicada (BUDDENKOTTE; STEINHOFF, 2018; RAINER et al., 2020 apud PEREIRA; PEREIRA, 2020). Inferindo ainda, que a catelicidina LL-37, está relacionada com a proteção microbiana, além de controlar respostas imunes, estimula a proliferação endotelial e angiogênese. Fato descrito por Piancastelli (2014), de que na pele acometida pela rosácea, as proteases que quebram as catelicidinas são expressas de maneira excessiva, e os peptídeos liberados podem induzir uma resposta inflamatória que se reflete na vermelhidão.

Além disso, outras situações como doença coronariana, hipertensão e doenças respiratórias podem estar relacionadas com o desenvolvimento da rosácea. Sabe-se que o sistema imune inato dos afetados pela alteração encontra-se debilitado e isso provoca a liberação desordenada de citocinas pró-inflamatórias (PEREIRA; PEREIRA, 2020).

Estudos indicam que cerca de 1 a 22% da população apresenta o quadro de rosácea, sendo que o subtipo mais comum é a rosácea eritemato-telangiectásica, mais frequentemente diagnosticada em mulheres, enquanto a rosácea fimatosa predomina em homens. Essa condição é muito comum em adultos caucasianos de pele clara e com sensibilidade ao sol, geralmente moradores do norte da Europa, sendo descrita pelo eritema e com fisiopatologia desconhecida, não responsiva em tratamentos de uso sistêmico (ANTÔNIO et al., 2018).

Embora não haja cura para a rosácea, alguns tratamentos mais comuns podem ajudar a reduzir suas manifestações, trazendo maior bem estar para o paciente (COUTO; SILVA et al., 2018). Destacando aqui, as indicações de uso tópico,

aprovadas pelo *Food and Drug Administration (FDA)*, como o ácido azeláico, metronidazol, sulfacetamida de sódio, entre outros. Essas substâncias auxiliam no tratamento das pápulas e pústulas inflamatórias (WOO et al., 2020 apud PEREIRA; PEREIRA, 2020).

Para auxiliar o tratamento, podem ser indicados também o uso de antiparasitários por conta de sua ação contra o ácaro *Demodex* que pode ser um agente influenciador na rosácea (ORTON; MAERTELAER, 2020 apud PEREIRA; PEREIRA, 2020).

Antônio e seus colaboradores (2018) expuseram em seu artigo, os estudos acerca de aplicações intradérmicas de TxB-A, utilizando OnabotulinumtoxinA (1 frasco de 100 uL diluído em 8 ml de soro fisiológico) na região glabellar, observando melhora no aspecto da pele acometida pela rosácea.

Embora os mecanismos de ação da toxina frente ao tratamento da rosácea não estejam totalmente esclarecidos, o procedimento adotado considera a técnica de microtox, através da qual são realizadas aplicações intradérmicas contendo 0,05 ml de toxina reconstituída, por todas as regiões afetadas. Procedimento este realizado novamente após 15 dias e ao final de 30 dias, observando melhora do quadro eritematoso e resultados satisfatórios (ANTÔNIO et al., 2018). Sugerindo aqui, que tais resultados possam ter relação com a inibição da liberação de neuropeptídeos vasodilatadores e inflamatórios. Vale ressaltar ainda, que embora existam trabalhos referenciando o uso da toxina para o tratamento da rosácea, deve ser realizado com cautela e respeitado o tempo de aplicação para evitar problemas com a imunogenicidade dos pacientes tratados, entre outras alterações possíveis.

A toxina botulínica causa o bloqueio dos receptores pré-sinápticos da acetilcolina diminuindo a vascularização excessiva das regiões afetadas e, atua também nas glândulas sebáceas, causando atrofia e diminuindo sua ação. Além disso, pode ocorrer também a inibição dos dois peptídeos neurogênicos associados à rosácea ligados à inflamação (COUTO; FERREIRA; DA SILVEIRA; STEINER, 2018 apud MALACHOSKI; RIBAS, 2021).

### **3.2 Uso da TxB-A para Tratamento e Prevenção da Enxaqueca**

Dor de cabeça é um relato frequente na rotina médica. Estudos apontam que

pelo menos 90% da população sofrem no mínimo um quadro de dor de cabeça em sua vida (MONZILLO et al., 2004 apud CARVALHO, Gagliani, 2014). Dentre elas, podemos destacar a enxaqueca, desencadeada por diversos fatores, e refletindo um maior índice nas mulheres, principalmente pelas oscilações hormonais (PAHIM; MENEZES; LIMA, 2006 apud CARVALHO; GAGLIANI, 2014). A contribuição genética, e o estilo de vida do indivíduo são fatores de grande importância (NACAZUME, 2019).

Atribui-se a enxaqueca, uma doença neurológica crônica, que além de incapacitante em alguns casos, pode causar impactos sociais e econômicos, visto que muitas vezes afeta a rotina dos pacientes, diminuindo sua produtividade (KUROIWA et al., 2021).

Antigamente, a fisiopatologia da enxaqueca era explicada como um distúrbio vascular craniano, no qual a dor era ocasionada pela dilatação anormal dos vasos sanguíneos intracranianos, causando uma ativação dos nervos sensoriais perivasculares. Porém, com o desenvolvimento de novos estudos, sabe-se que a enxaqueca é um distúrbio neurológico mais complexo que decorre de uma alteração na função da rede cerebral periférica e central (KUROIWA et al., 2021).

Juntamente com um melhor entendimento da forma como a enxaqueca se manifesta, e quais alterações ela provoca, pode-se desenvolver novas formas de tratamento. Algumas vias elucidaram o papel do peptídeo relacionado com gene da calcitonina (CGRP) como mediador da enxaqueca. Nas crises, há uma liberação de CGRP na corrente sanguínea e alguns triptanos ajustam essa concentração. Com isso, anticorpos que visam o CGRP ou seus receptores foram desenvolvidos, mostrando certa eficácia nos estudos de fase III (ONG; WEI; GOADSBY, 2018 apud NACAZUME, 2019).

O tratamento convencional inclui o uso de medicamentos específicos ou não específicos. Mas estudos relatam que o uso prolongado dos medicamentos convencionais pode trazer consequências principalmente cardiovasculares e até cefaleias de rebote (ARAÚJO; LIMA, 2017 apud KUROIWA et al., 2021).

Aliando neste contexto, o uso alternativo, em alguns casos, da toxina botulínica como forma profilática para pessoas que possuem crises com frequência maior que duas ou três vezes ao mês (KUROIWA et al., 2021). O uso da OnabotulinumtoxinA foi aprovado em 2010, nos Estados Unidos pela FDA (Food and Drug Administration),

após estudos comprovarem sua eficácia na profilaxia da enxaqueca (ARAÚJO; LIMA, 2017 apud KUROIWA et al., 2021).

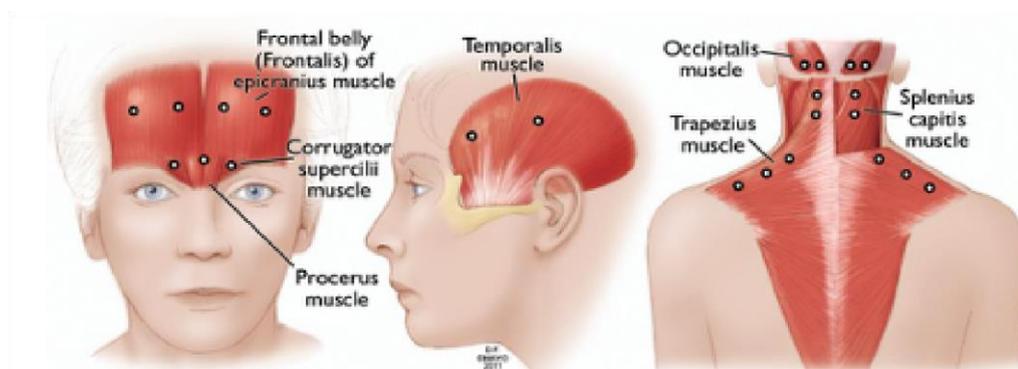
Em 2000, um pequeno estudo começou a ser desenvolvido sobre o uso da toxina botulínica para a cefaleia crônica. Apesar do resultado obtido ter sido paradoxal, juntamente com outros estudos, formou-se um grande programa de pesquisas sobre os benefícios da TxB-A para enxaqueca (KUROIWA et al., 2021).

Diversos outros estudos foram conduzidos e apesar de diferentes resultados, os benefícios foram encontrados e houve a aprovação do uso da TxB-A apenas para enxaqueca crônica em alguns países (SZOK et al., 2015).

Estudos apontam que o uso da toxina botulínica proporcionou um efeito analgésico na dor pela inibição de neuropeptídeos como CGRP. Alguns autores sugerem que o CGRP tem papel importante no desenvolvimento da enxaqueca, possivelmente por aumentar a sensibilização central. Nesses estudos, foi possível observar que o nível de CGRP intersticial diminuiu em pacientes com enxaqueca tratados com TxB-A quando comparados com pacientes não tratados com a toxina. Além disso, através do mecanismo principal da toxina botulínica, que atua inibindo a contração muscular, o efeito de relaxamento do músculo traz resultados positivos para os pacientes acometidos com enxaqueca (CERNUDA-MOROLLON et al., 2015 apud SZOK et al., 2015).

A aplicação da toxina botulínica deve ser o protocolo estabelecido, distribuindo pontos entre a cabeça e o pescoço, ressaltando como principais pontos os músculos corrugador, prócero, frontal, temporal, occipital, trapézio e paraespinal cervical, conforme indicações na Figura 2 (GRAZZI; USAI, 2014).

**Figura 2** - Músculos de aplicação da toxina botulínica para enxaqueca.



Fonte: Metelo (2014).

Embora os estudos tenham demonstrado resultados satisfatórios com a aplicação da toxina, pacientes relataram diminuição nos dias de dores por mês, além de menos uso de medicamentos (GRAZZI; USAI, 2014). Os efeitos adversos podem surgir, sendo os mais comuns: rigidez e dor no local da aplicação acompanhados de perda do tônus muscular, como consequência do relaxamento do músculo. Além disso, o risco de desenvolvimento de anticorpos contra a toxina pode prejudicar seu efeito. A aplicação não deve ser feita em pacientes lactantes e grávidas, pacientes que possuem doenças neuromusculares ou que estão fazendo uso de antibióticos (KUROIWA et al., 2021).

### **3.3 Uso da TxB-A para Disfunção da Articulação Temporomandibular (ATM)**

Atribui-se a articulação temporomandibular (ATM) uma estrutura composta de vários elementos que são capazes de realizar movimentos variados como: deglutição, postura, mastigação e fonação. É uma articulação de alta complexidade, principalmente por permitir movimentos de rotação e de translação. O funcionamento adequado dessa articulação depende de uma harmonia entre ela, a região dental e neuromuscular. E caso haja alguma alteração em sua conformação natural, há o que denomina-se de disfunção da articulação temporomandibular (DTM) (NOGUEIRA et al., 2005; DONNARUMMA et al., 2010).

As causas da DTM são multifatoriais e tendem a estar relacionadas com diversos aspectos. A disfunção pode surgir a partir de traumas no local, ansiedade, depressão e ainda por doenças degenerativas, alterações na viscosidade do líquido sinovial e até alterações genéticas que aumentam a sensibilidade à dor (CARRARA et al., 2010).

É possível dividir as DTMs em duas categorias: as que estão relacionadas com a articulação, e as que possuem origem muscular. Independente da origem, a principal queixa dos pacientes que possuem essa disfunção é a dor. Pacientes ainda relatam sintomas como: dor na face, estalos durante a mastigação, dificuldade em abrir totalmente a boca, dores de cabeça, zumbido no ouvido, dores que irradiam pela orelha, apertamento dos dentes, entre outros (DONNARUMMA et al., 2010).

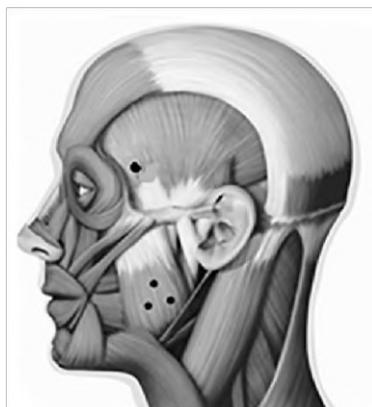
O tratamento da DTM geralmente é realizado em conjunto com diversos

profissionais como: cirurgião-dentista, fisioterapeutas, psicólogos e fonoaudiólogos. Sendo o tratamento fisioterápico um dos principais métodos para alívio da dor, já que através dele há o estabelecimento da posição de repouso mandibular e restabelecimento das funções musculares, o que a longo prazo traz inúmeros benefícios ao paciente. Além disso, o uso da placa oclusal indicada pelo dentista é um tratamento considerado de uso geral e eficiente, aliviando os sintomas em até 90% (SANTOS; PEREIRA, 2016; FASSINA et al., 2017).

Apesar disso, os tratamentos convencionais existentes no mercado exigem acompanhamentos rotineiros por parte do paciente, e muitas vezes se tornam trabalhosos ou até desconfortáveis. Com o intuito de proporcionar um tratamento prático e eficiente para DTM, foram desenvolvidos estudos que associam o uso da TxB-A a melhora da sintomatologia da DTM. Um estudo realizado em 1999 concluiu que houve uma melhora significativa da dor em pacientes que receberam aplicação de 150 U de TxB-A distribuídas em cada músculo temporal e masseter, sendo a avaliação realizada a cada duas semanas durante oito semanas (FASSINA et al., 2017).

Com relação a aplicação, sabe-se que ela pode variar de 10 a 400 Ui podendo ser dividida a aplicação em duas sessões. Geralmente, os locais escolhidos são os músculos masseter e temporal (Figura 3), que são responsáveis pelo levantamento da mandíbula. Mesmo alguns estudos apontando sua eficiência no controle da dor desses pacientes, não se sabe a durabilidade da TxB-A para essa finalidade, sendo necessário mais estudos que confirmem a total eficiência dela. Porém, alguns autores ainda indicam seu uso como secundário, quando terapias convencionais não são suficientes para o paciente (FASSINA et al., 2017).

**Figura 3** - Principais pontos de aplicação da toxina botulínica para o tratamento da DTM.



Fonte: Sposito e Teixeira, (2014).

### 3.4 Uso da TxB-A para Tratamento do Bruxismo

Caracterizado principalmente pelo ranger de dentes durante o sono e vigília, o bruxismo é um problema que atinge até 90% da população em alguma fase da vida. Nos consultórios odontológicos, essa queixa é uma das mais desafiadoras (TEIXEIRA, 2013).

Sua etiologia envolve diversos fatores e é pouco específica. Pode estar relacionada com a área emocional do paciente, má oclusões dentárias, ou ainda distúrbios neurológicos (GAIDA, 2004 apud FRANCESCON, 2014).

Diversos tratamentos são indicados para o alívio da dor ocasionada pelo bruxismo, incluindo uso de placas oclusais, um método também oferecido para pessoas acometidas pela disfunção temporomandibular (DTM). Apesar disso, os tratamentos conhecidos não são totalmente eficientes, o que estimulou o desenvolvimento de novos estudos, e o uso da toxina botulínica foi analisado como uma possibilidade de tratamento nos últimos anos (LOBBEZOO et al., 2008, apud FRANCESCON, 2014).

As injeções de TxB-A geralmente são aplicadas nos músculos masseteres induzindo um relaxamento muscular. Em um estudo desenvolvido por Alcolea et al. em 2019, foram realizadas aplicações de 10Ui à 50Ui de TxB-A em cada músculo masseter conforme observado também na figura 3. Os resultados foram analisados após 2 semanas e 4 meses com resultados satisfatórios. Cerca de 96% dos pacientes

recomendariam o tratamento mesmo com alguns efeitos adversos (equimose, edema, dor na aplicação). Os pacientes que sentiam dor antes do tratamento, relataram que após aplicação, não sentiam mais dores relacionadas ao bruxismo (ALCOLEA et al., 2019). Desse modo, os resultados publicados mostram que a TxB-A deve ser considerada um tratamento de eficiência contra o bruxismo, além de ser segura, sendo indicada até mesmo como prevenção, evitando o surgimento de disfunções estéticas e funcionais.

### **3.5 Uso da TxB-A no Tratamento da Hiperidrose**

A sudorese é uma importante resposta termorregulatória ao calor. Ela é mediada nas terminações glandulares por uma inervação colinérgica pós-ganglionar. Quando ocorre uma hiperatividade das glândulas sudoríparas, caracteriza-se a hiperidrose, uma condição em que a produção de suor é exacerbada inclusive em repouso (HAGEMANN; SINIGAGLIA, 2019). Os referidos autores relatam que essa condição atinge cerca de 1% da população, podendo acometer homens e mulheres, e normalmente havendo mais casos presentes na família, o que sugere a influência de fatores genéticos.

A hiperidrose pode acometer várias áreas do corpo e é impactante na vida social e emocional do indivíduo, necessitando de um tratamento específico para controle do suor em excesso (REIS; GUERRA; FERREIRA, 2011).

O tratamento convencional da hiperidrose axilar envolve o uso de sais de alumínio, que causam o bloqueio dos ductos epidérmicos e possível atrofia das células glandulares. O produto é aplicado normalmente durante a noite e retirado no período da manhã. Sintomas como ardência e irritação são comuns. Entretanto, em casos que não há bons resultados com os tratamentos convencionais, podem ser usados medicamentos de ação sistêmica como os anticolinérgicos, porém seus efeitos colaterais são significativos: ressecamento da pele e dos olhos, constipação (GONTIJO et al., 2011).

O uso da TxB-A tem se mostrado eficiente no tratamento da hiperidrose axilar. Sua funcionalidade deve-se ao fato dela impedir a liberação da acetilcolina na fenda sináptica, já que causa uma divisão na proteína de membrana SNAP-25. A glândula sudorípara não irá secretar suor, já que não será estimulada (SILVA et al., 2021).

Em uma análise retrospectiva realizada por REIS e colaboradores, em 2011, foram realizadas injeções intradérmicas na região axilar de pacientes que possuíam hiperidrose primária. A aplicação foi distribuída em pontos, que variaram de 30 a 50Ui locais com espaços de até 2 cm entre si. O resultado do estudo realizado, indica juntamente com outras análises realizadas, que o uso da toxina botulínica para o tratamento e prevenção da hiperidrose é promissor e satisfatório para os pacientes. Sua segurança é garantida e adequada, e quando comparada com o uso de placebos, demonstra resultado positivo (REIS, GUERRA e FERREIRA, 2021). Apesar disso, existe ainda a necessidade de novos estudos de modo a aprofundar o conhecimento a respeito do uso da toxina botulínica para hiperidrose.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em vista dos argumentos apresentados neste trabalho, a toxina botulínica possui uma ação satisfatória, sendo possível ser utilizada em algumas disfunções conhecidas. O mecanismo de ação da toxina é comum em diversos usos sendo ele, a inibição da liberação de acetilcolina nas fendas sinápticas atuando como um inibidor da contração muscular. Além disso, possui um efeito sobre a inibição de vasodilatadores e neuropeptídeos ligados a inflamação, o que torna seu efeito satisfatório na rosácea, por exemplo.

Assim, o tratamento das disfunções utilizando a toxina botulínica torna-se promissor, trazendo segurança de uso, desde que executado por profissionais qualificados e com conhecimentos correlacionados, bem como respeitadas áreas de segurança, formas de preparo da toxina e respeito às áreas anatômicas, já que corresponde a um procedimento minimamente invasivo, além de possuir um valor acessível comparado com demais tratamentos ofertados no mercado.

#### REFERÊNCIAS

ALCOLEA, Justo M et al . Tratamiento del bruxismo con toxina botulínica tipo A. Estudio clínico prospectivo. **Cir. plást. iberolatinoam.**, Madrid , v. 45, n. 4, p. 435448, dic. 2019.

ANTÔNIO, Carlos Roberto, et al. "Tratamento de Rosácea Com Toxina Botulínica." **Surg Cosmet Dermatol**, Sept. 2018, p. 36–9.

ARAÚJO, L. R. P.; LIMA, A. A. O uso da toxina botulínica no tratamento da

enxaqueca. Centro universitário de Brasília, faculdade de ciências da educação e saúde. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de Vigilância em Saúde**: volume único [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. 3. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2019.

BRAZ, J. R. C. Fisiologia da termorregulação normal. **Revista Neurociências**, [S. l.], v. 13, p. 12–17, 2005.

BUDDENKOTTE, Joerg; STEINHOFF, Martin, Recent advances in understanding and managing rosacea, **F1000Research**, v. 7, p. F1000 Faculty Rev-1885, 2018.

CAMPOS, Ricardo Jorge Saraiva, Aplicações da toxina botulínica em patologias neurológicas, 2016. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.6/5365>

CARRARA, Simone Vieira, Conti, Paulo César Rodrigues e Barbosa, Juliana Stuginski - Termo do 1º Consenso em Disfunção Temporomandibular e Dor Orofacial. **Dental Press Journal of Orthodontics [online]**. 2010, v. 15, n. 3 pp. 114-120.

CARVALHO, Andreza Vitória Calabrez de; GAGLIANI, Luiz Henrique, Toxina botulínica: tratamento de enxaquecas, **UNILUS Ensino e Pesquisa**, v. 11, n. 22, p. 63–76, 2014.

CERNUDA-MOROLLON, E.; Ramón, C.; Larrosa, D.; Álvarez, R.; Riesco, N.; Pascual, J. Experiência de longo prazo com onabotulinumtoxinA no tratamento da enxaqueca crônica: O que acontece após um ano? **Cephalalgia** 2014.

CHARLES, A. The pathophysiology of migraine: implications for clinical management. **The Lancet Neurology**, v. 17, n. 2, p. 174–182, 2018.

COLHADO, Orlando Carlos Gomes; BOEING, Marcelo; ORTEGA, Luciano Borna, Toxina botulínica no tratamento da dor, **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 59, p. 366–381, 2009.

DONNARUMMA, Mariana Del Cistia et al. Disfunções temporomandibulares: sinais, sintomas e abordagem multidisciplinar. **Revista CEFAC [online]**. 2010, v. 12, n. 5 , pp. 788-794.

FASSINA, Melina & Jóias, Renato & Jóias, Renata. Toxina botulínica tipo A nas DTM musculares: há eficácia? *Odonto*. 24. 1. 2018.

FRANCESCON, Ariane. Uso da toxina botulínica no controle do bruxismo. 2014 1537f. **Trabalho de conclusão de curso - Universidade Federal de Santa Catarina, departamento de odontologia**, Florianópolis, 2014.

FUJITA, R.L.R.; HURTADO, C.C.N. Aspectos relevantes do uso da toxina botulínica

no tratamento estético e seus diversos mecanismos de ação. *Int Saber Científico*; 8(1):120. 2019.

GAIDA, P. S. BRUXISMO UM DESAFIO PARA A ODONTOLOGIA. 2004. 49 f. TCC (Graduação) - Curso de Especialização em Prótese Dentária, Departamento de Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

GONTIJO, Gabriel Teixeira; VIEIRA, Gustavo Gualberto; BRITO, Natália Augusta Madureira. Atualização no tratamento de hiperidrose axilar. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, vol. 3, núm. 2, 2011, pp. 147-151.

GRAZZI L, Usai S. Botulinum toxin A: a new option for treatment of chronic migraine with medication overuse. **Neurol Sci**. 2014 May;35 Suppl 1:37-9.

GOUVEIA, B.N.; FERREIRA, L.L.P.; ROCHA SOBRINHO, H.M. O uso da toxina botulínica em procedimentos estéticos The practical use of botulinum toxin in aesthetics. **Revista Brasileira Militar de Ciências**, v. 6, n. 16, 2020.

HAGEMANN, Daniela; SINIGAGLIA, Giovana. HIPERIDROSE E O USO DA TOXINA BOTULÍNICA COMO TRATAMENTO: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. **Revista Destaques Acadêmicos**, [S.l.], v. 11, n. 3, nov. 2019

KUROIWA, Alessandra et al. Toxina botulínica no tratamento da enxaqueca crônica. v.8 n.4 (2021): **Acta MSM: Periódico da Escola de Medicina Souza Marques**, 2022.

LOBBEZOO, Frank et al. Principles for the management of bruxism. **Journal Of Oral Rehabilitation, Amsterdam**, p. 509-523. jul. 2008

MALACHOSKI , K. G. G. dos S. .; RIBAS, J. L. C. Treatments used to control signs and symptoms in rosacea. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. e55610212780, 2021.

METELO, Catarina de Sá. **Aplicações terapêuticas da Toxina Botulínica - Monografia (mestrado em ciências farmacêuticas)** - Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz . 2018

MONZILLO, Paulo H. et al. Tratamento agudo da crise de enxaqueca refratária na emergência: Estudo comparativo entre dexametasona e haloperidol, Resultados preliminares. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria [online]**. 2004, v. 62, n. 2b.

NACAZUME, Jéssica. **Tratamento e profilaxia de enxaqueca no Brasil: cenário atual e novas perspectivas**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

NOGUEIRA Ferraz Pereira, Kelli; Lima Sena de Andrade, Leilane; Gurgel da Costa, Maria Lúcia; Fernandes Portal, Tatiane SINAIS E SINTOMAS DE PACIENTES COM DISFUNÇÃO TEMPOROMANDIBULAR **Revista CEFAC**, vol. 7, núm. 2, abril-junio,

2005, pp. 221-228

ONG, J. J. Y.; WEI, D. Y.-T. T.; GOADSBY, P. J. Recent Advances in Pharmacotherapy for Migraine Prevention: From Pathophysiology to New Drugs. *Drugs*, v. 78, n. 4, p. 411–437, mar. 2018.

PAHIM, Luciane Scherer; MENEZES, Ana M B; LIMA, Rosângela. Prevalência e fatores associados à enxaqueca na população adulta de Pelotas, RS. **Saúde Pública, Rua Uruguai no 100 apto 403, Passo Fundo**. p.693-698, 05 maio 2006.

PEREIRA, Míria Dantas; PEREIRA, Mara Dantas, ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS, FATORES DESENCADEADORES, DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA ROSÁCEA: UMA REVISÃO DA LITERATURA, **Caderno de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde - UNIT - SERGIPE**, v. 6, n. 2, p. 75–75, 2020.

PIANCASTELLI, André. “Rosácea - novos insights sobre fisiopatologia”. **Connect Farma**.

REIS, Gilberto Marcos Dias dos; GUERRA, Ana Cristina Silva; FERREIRA, João Paulo Amaral. Estudo de pacientes com hiperidrose, tratados com toxina botulínica: análise retrospectiva de 10 anos. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**, v. 26, p. 582–590, 2011.

ROBERTSON, Carrie E.; GARZA, Ivan. Critical analysis of the use of onabotulinumtoxinA (botulinum toxin type A) in migraine. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, v. 8, p. 35–48, 2012.

SANTOS, C.S.; MATTOS, R.M.; FULCO, T.O. Toxina botulínica tipo A e suas complicações na estética facial. *Rev Episteme Transversalis*; 6(2236–2649):73–84. 2015.

SANTOS, Lúcia & Pereira, Mayane. (2016). A efetividade da terapia manual no tratamento de disfunções temporomandibulares (DTM): uma revisão da literatura. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde - USCS**. 14.10.13037/ras.vol14n49.3596.

SILVA, Luciana Couto e *et al*, Estudo prospectivo para tratamento do rubor da rosácea com toxina botulínica tipo A, **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v. 10, n. 2, p. 121–126, 2018.

SILVA, ML da.; FERREIRA, L.; PEIXOTO, AC.; NERES, LLFG.; CABRAL, MRL. Uso de toxina botulínica tipo a para fins terapêuticos. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, [S. l.], v. 10, n. 14, pág. e535101422385, 2021.

SPOSITO, M.M.M. Toxina Botulínica do Tipo A: mecanismo de ação. **Rev Acta Fisiátrica**. 16:25–37. 2009.

SZOK, D.; Csati, A.; Vecsei, L.; Tajti, J. Tratamento da enxaqueca crônica com OnabotulinumtoxinA: Modo de ação, eficácia e segurança. **Toxinas** 2015, 7, 26592673.

TEIXEIRA, Stephanie Alderete Feres; SPOSITO, Maria Matilde de Mello, A utilização de Toxina Onabotulínica A para bruxismo: Revisão de Literatura, **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 70, n. 2, p. 202–204, 2013.

VASCONCELLOS, R.C.; SOTERO P.; LAGE, R. Atualizações do uso cosmiátrico e terapêutico da toxina botulínica. **Int Surg Cosmet Dermatology**. 10(3):97–104. 2019.

WOO, Yu Ri *et al*, Characterization and Analysis of the Skin Microbiota in Rosacea: Impact of Systemic Antibiotics, **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, n. 1, p. 185, 2020.

# HIV E SUAS ALTERAÇÕES EM CÉLULAS DE DEFESA LEVANDO A IMUNOSSUPRESSÃO

## HIV AND ITS CHANGES IN DEFENSE CELLS LEADING TO IMMUNOSUPPRESSION

Chede Keith Rodrigues Izuhara Barbieri  
Anelise Franciosi

### RESUMO

O vírus da imunodeficiência humana (HIV), foi isolado e caracterizado no ano de 1983 por Luc Montagnier e outros pesquisadores, e atinge milhares de pessoas desde então. De acordo com pesquisas realizadas em sites acadêmicos, esse vírus tem tropismo por células de defesa do organismo humano, infectando os linfócitos T CD4+ (responsável por recrutar e ativar fagócitos) e T CD8+ (responsável por eliminar células infectadas), fazendo com que o DNA dessas células T sejam alteradas criando cópias de si mesmo e, após sua multiplicação, rompe essas células de defesa e buscam por outras novas. Essa infecção possui 3 fases (infecção primária, período de latência e doença clínica) e atinge células de defesa do organismo, fazendo com que o indivíduo fique susceptível a doenças do sangue como: anemia, leucopenia e trombocitopenia, debilitando ainda mais o mesmo. Ainda sendo o objetivo do vírus atacar células de defesa, o indivíduo portador do mesmo, caso não haja tratamento, pode contrair doenças oportunistas como a cândida, doença causada por um fungo presente no organismo feminino, podendo se desenvolver no organismo masculino quando a imunidade do mesmo se encontra baixa. Pesquisas feitas em sites acadêmicos como Scielo, Google Acadêmico e PubMed, mostraram que o melhor tratamento para HIV hoje em dia é a terapia antirretroviral (TARV). O objetivo do trabalho é percorrer sobre o curso do vírus no organismo compreendendo a imunodeficiência do indivíduo frente a essa doença.

**Palavras-chaves:** células de defesa; linfócito; vírus HIV.

### ABSTRACT

The human immunodeficiency virus (HIV) was isolated and characterized in 1983 by Luc Montagnier and other researchers, and has affected thousands of people ever since. According to research conducted in academic sites, this virus has tropism for defense cells of the human organism, infecting CD4+ T lymphocytes (responsible for recruiting and activating phagocytes) and CD8+ T lymphocytes (responsible for eliminating infected cells), causing the DNA of these T cells to be altered, creating copies of itself and, after its multiplication, breaks these defense cells and searches for new ones. This infection has 3 phases (primary infection, latency period and clinical disease) and affects the body's defense cells, making the individual susceptible to blood diseases such as anemia, leukopenia and thrombocytopenia, debilitating him/her even more. Still being the objective of the virus to attack defense cells, the individual carrier of the virus, if there is no treatment, can contract opportunistic diseases such as candida, a disease caused by a fungus present in the female organism, which can

develop in the male organism when the immunity is low. With the advancement of technology and science, many treatments have been studied and developed to better care for patients infected with the virus, with ART (antiretroviral therapy) being one of the best therapies until then, increasing the life expectancy of those who carry this disease.

**Keywords:** defense Cells; lymphocyte; HIV virus.

## 1 INTRODUÇÃO

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) foi o primeiro isolado e caracterizado em 1983 por Luc Montagnier e um grupo de pesquisadores (MONTAGNIER, 2002; SCHECTER, 2001). O HIV pertence à família Retroviridae, subfamília Orthoretrovirinae, gênero *Lentivirus* e ao subgênero dos *Lentivirus* dos Primatas (SIERRA et al., 2005).

O HIV causa uma infecção crônica em seres humanos que é caracterizada por alta viremia plasmática, perda progressiva de linfócitos T CD4 + e imunodeficiência severa, resultando no estabelecimento de infecções oportunistas e da AIDS (MWIMANZI et al., 2012). Este vírus apresenta alta taxa de mutações durante o processo de replicação, no interior das células de defesa do indivíduo, e tem como alvo principal os linfócitos T CD4 +, provocando gradativamente a destruição dessas células (MWIMANZI et al., 2012; OKOYE; PICKER, 2013).

Os estágios clínicos da infecção empregam uma combinação de condições clínicas com a contagem de células CD4+.

Na maioria dos pacientes a infecção pelo HIV ocorre em três fases: infecção primária, período de latência e doença clínica ou AIDS/SIDA (BALESTIERI, 2006; BRASIL, 2002; BRASIL, 2010).

As principais formas de transmissão do HIV são através das relações sexuais desprotegidas, de mãe para filho (s), transfusões de sangue e de hemoderivados, e pelo contato com material perfurocortante contaminado (SHAW; HUNTER, 2012, GERMAN ADVISORY COMMITTEE BLOOD, 2016). Apesar das diferentes vias de transmissão do HIV, a principal continua sendo através de relações sexuais desprotegidas, proporcionando o surgimento de epidemias em nível mundial (FARIA et al., 2014).

A caracterização dessa doença se dá por meio da contínua replicação viral e depleção dos linfócitos T CD4+, as células mais prejudicadas nesse processo viral (SIMÕES; GOMES, 2006; DAMINELLI; TRITINGER; SPADA, 2010). Como marcadores prognósticos importantes para o controle da infecção pelo HIV e auxílio da evolução da doença, utiliza-se a carga viral e a contagem de células T CD4+ (DAMINELLI; TRITINGER; SPADA, 2010).

Em virtude das alterações causadas pela contínua replicação viral e depleção dos linfócitos T CD4+ pela infecção pelo HIV, observa-se amplas manifestações hematológicas, que incluem anemia, leucopenia e plaquetopenia. Estas alterações hematológicas são multifatoriais e podem ser causadas por diminuição da produção ligadas a infiltração da medula óssea por neoplasias, hematopoiese ineficaz ou medicamentos mielos supressivo, além de ter outros fatores como carências nutricionais crônicas e déficits absorptivos de diferentes causas (LEITE, 2010; OLIVEIRA; OLIVEIRA; SOUZA, 2011; ALVES et al., 2011).

A terapia para HIV tem grande significado para a melhora da condição e saúde dos portadores do vírus, atualmente o uso dessa medicação pode reduzir em até 96% as chances de transmitir o vírus. Neste sentido os antirretrovirais têm efeitos expressivos na prevenção do HIV, o que contribui efetivamente no equilíbrio epidemiológico e aponta um aumento progressivo pela busca desses medicamentos (LAGO; COSTA, 2017).

No Brasil, os casos de infecção pelo HIV começaram a ser diagnosticados desde o final de 1980, e até junho de 2017, foram notificados no país 882.810 casos, com uma média de 40 mil novos casos nos últimos cinco anos. Apesar desses números expressivos, no período de 2006 até 2016, houve uma queda de 5,1%. Em 2006, a taxa foi de 19,9 casos/100 mil habitantes e, em 2016 de 18,5/100 mil habitantes (BRASIL, 2017).

Além das disfunções que o HIV causa nos linfócitos T CD4+ e T CD8+, há também alterações hematológicas envolvendo: anemia, plaquetopenia e leucopenia. Em virtude das alterações causadas pela contínua replicação viral e depleção dos linfócitos T CD4+ pela infecção pelo HIV, observa-se amplas manifestações hematológicas, que incluem anemia, leucopenia e plaquetopenia. Estas alterações hematológicas são multifatoriais e podem ser causadas por diminuição da produção

ligadas a infiltração da medula óssea por neoplasias, hematopoiese ineficaz ou medicamentos mielossupressivo, além de ter outros fatores como carências nutricionais crônicas e déficits absorptivos de diferentes causas (LEITE, 2010; OLIVEIRA; OLIVEIRA; SOUZA, 2011; ALVES et al., 2011)

O presente trabalho tem como objetivo mostrar o percurso que o vírus do HIV faz dentro das células de defesa do organismo, além disso, compreender toda a destruição que o mesmo faz e entender o motivo do indivíduo ficar tão imunossuprimido.

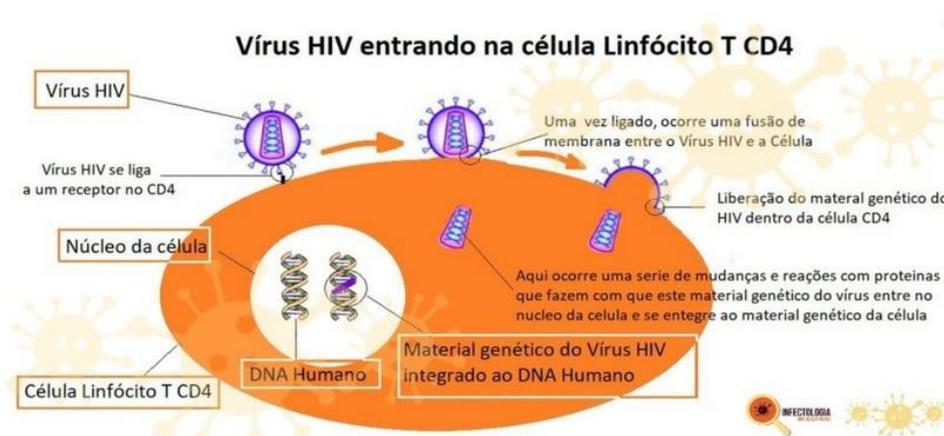
## **2 METODOLOGIA**

Para elaboração do presente estudo, foram realizadas pesquisas bibliográficas do tipo descritiva e exploratória, utilizando artigos disponíveis em bases de dados como o Google Acadêmico, Scielo e PubMed. Os artigos utilizados foram trabalhos completos em língua portuguesa e inglesa, onde as partes de interesse foram traduzidas em fontes confiáveis e referenciadas devidamente obedecendo as citações das normas da ABNT. Para a pesquisa sobre as alterações do vírus em células de defesa, sua etiologia e manifestações hematológicas, foram utilizadas algumas palavras-chave como: HIV; alterações imunológicas; e alterações hematológicas.

## **3 DESENVOLVIMENTO**

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) foi descoberto por Luc Montagnier e outros pesquisadores no ano de 1983, e atinge milhares de pessoas desde então (MONTAGNIER, 2002; SCHECTER, 2001). O HIV pertence à família Retroviridae, subfamília Orthoretrovirinae, género Lentivirus e ao subgénero dos Lentivirus dos Primatas (SIERRA et al., 2005). Esse vírus possui enzima transcriptase reversa, que permite a transcrição do RNA viral em DNA. As principais células infectadas por esse vírus são as que possuem células CD4<sup>+</sup> em sua superfície, sendo predominante os linfócitos T CD4<sup>+</sup> e macrófagos (RACHID; SCHECHTER, 2000).

**Figura 1** - Replicação do vírus HIV dentro do linfócito T CD4



**Fonte:** Dra Keilla Freitas (2017)

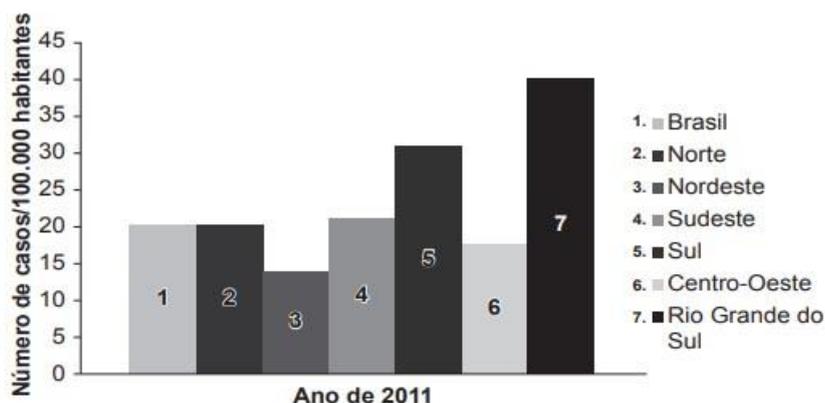
Segundo Brasil (2006), fatores como: presença de alta viremia, período menstrual e presenças de outras doenças sexualmente transmissíveis (como, por exemplo, cancro mole, sífilis e herpes genital), aumentam significativamente o risco de transmissão do HIV durante as relações sexuais.

Ao se infectar com o vírus HIV, o organismo do paciente acometido se torna suscetível a outros patógenos oportunistas que surgem como uma consequência da imunidade debilitada, decorrente de estágios avançados da infecção por HIV. Há uma maior frequência de infecções oportunistas em pacientes que possuem a infecção por HIV não tratada, ou seja, não possuem os benefícios da terapia antirretroviral. Dentre as inúmeras infecções oportunistas, as mais comuns são: tuberculose, pneumonias causadas pelo gênero *Pneumocystis*, candidíase, criptococose, toxoplasmose, citomegalovírus e infecções pelo complexo *Mycobacterium avium*, infecção por vírus do herpes simples e criptosporidíase. Devido ao paciente acometido pelo vírus do HIV possuir baixa imunidade, é possível que algumas doenças consideradas latentes reapareçam no mesmo (FILHO et al., 2007).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) o número de pessoas infectadas pelo HIV aumentaria significativamente até o final do século, informando um número de 15 a 20 milhões de pessoas infectadas. Segundo o último boletim epidemiológico, de 1980 a junho de 2011, só no Brasil, foram notificados 608.230 casos de AIDS. O Rio Grande do Sul está em primeiro lugar entre os estados com maior número de casos de HIV, nos anos de 2000 a 2011. Para cada 100.000

habitantes foram registrados 40 novos casos (Figura 2) (A TRIBUNA, 2013; BRASIL, 2013).

**Figura 2** – Casos de HIV para cada 100.000 habitantes no ano de 2011



**Fonte:** Adaptado de: Boletim Epidemiológico AIDS/DST (2012). Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/229765299.pdf>

A dosagem da carga viral e a contagem de linfócitos CD4+ têm implicações prognósticas na evolução da infecção e nos estágios clínicos, sendo também utilizados como base para indicar a terapia antirretroviral. O tratamento é indicado para indivíduos sintomáticos e assintomáticos com contagem de linfócitos CD4+ abaixo de 200 células/ $\mu$ l (BRASIL, 2010; BONOLO; GOMES; GUIMARÃES, 2007; COURA, 2005; PEÇANHA, ANTUNES, 2002).

A terapia antirretroviral (TARV) é uma estratégia farmacológica com propósito de restaurar o sistema imunológico e melhorar a qualidade de vida em pessoas vivendo com HIV/aids (MELO et al., 2017). De acordo com o Departamento de DST/AIDS e hepatites virais do Ministério da Saúde, a contagem de linfócitos T CD4+ é um dos determinantes da notificação de infecção. Os estágios clínicos da infecção empregam uma combinação de condições clínicas com a contagem de células CD4+.

Na maioria dos pacientes a infecção pelo HIV ocorre em três fases: infecção primária, período de latência (fase assintomática) e doença clínica ou AIDS/SIDA (fase sintomática) (BALESTIERI, 2006; BRASIL, 2002; BRASIL, 2010).

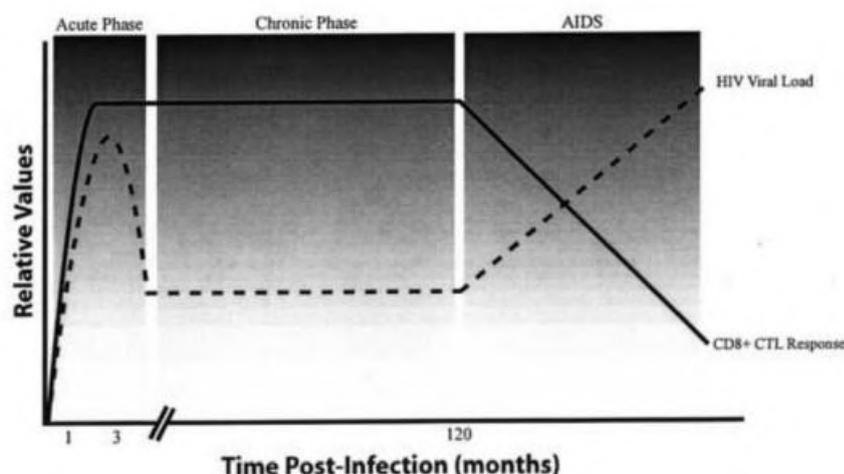
A infecção primária apresenta característica de uma mononucleose não específica. Os sintomas aparecem de duas a seis semanas após a exposição ao vírus.

De 14 a 21 dias após o seu início, os sintomas desaparecem (BRASIL, 2002; BRASIL, 2010).

Na fase assintomática (fase 2), os indivíduos infectados pelo HIV não apresentam manifestações clínicas aparentes, entretanto as avaliações laboratoriais iniciais devem fazer parte do hemograma, obtendo a contagem de linfócitos através do *Cluster de diferenciação* (marcador de superfície celular usado para diferenciar variados tipos de células). Já a fase sintomática (fase 3) pode ser dividida em tardia e precoce, onde a fase precoce caracteriza-se pela ocorrência de manifestações que aparecem mais comumente em indivíduos com uma imunodeficiência inicial, porém também pode ocorrer em imunocompetentes, e na fase tardia, onde tem-se a presença da doença propriamente dita, ocorre infecções e/ou neoplasias que acometem indivíduos imunossuprimidos e, raramente afetam imunocompetentes. (RACHID; SCHECHTER, 2017).

A infecção pelo HIV é caracterizada por uma explosão primária de replicação viral que é inicialmente contida por uma forte resposta celular e humoral dentro de semanas (FAUCI, 1996). Durante a fase aguda da infecção viral, há um aumento concomitante da resposta dos CTL (linfócitos T citotóxicos) com a da carga viral. O aumento acentuado dessa resposta durante os estágios iniciais da infecção se deve ao controle inicial da replicação viral pelos CTL. Tanto a resposta de CTL CD8+ quanto a carga viral mantém um ponto de ajuste durante a fase crônica da infecção que dura aproximadamente de 8-10 anos. No entanto, como a infecção pelo HIV leva à progressão da AIDS, o vírus acaba escapando da contenção imunológica e uma relação inversa entre a resposta de CTL CD8+ e a carga viral do HIV é observada (Figura 3) (BERGER; MURPHY; FARBER, 1999).

**Figura 3** - Relação entre a carga viral do HIV e a resposta do linfócito T citotóxico CD8+



**Fonte:** Current HIV Research (2004), Vol. 2, No. 1; Gulzar and Copeland

A infecção pelo HIV foi caracterizada por uma mudança de uma citocina Th1 (relacionadas principalmente com a defesa mediada por fagocitose contra agentes infecciosos intracelulares) para uma Th2 padrão (ajudam a ativar células B, resultando na produção de imunoglobulinas E (IgE) (ABBAS et al., 2015).

As células Th1 são conhecidos por secretar interleucina 2 (IL-2: ativa a imunidade celular e secreta citocinas) e interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ : atrai os macrófagos, que auxiliam na remoção de restos celulares e promovem a cicatrização e reorganização das áreas com inflamação) (SILVEIRA et al., 2009). As células Th2 são caracterizadas por secreção de várias interleucinas que induzem a proliferação e diferenciação de células B, aumentam a expressão do complexo principal de histocompatibilidade de classe II (MHC-II), possibilitando maior ativação de Th2, como exemplo tem-se a interleucina 4 (IL-4). Um fator específico de crescimento e diferenciação dos eosinófilos que estimula a proliferação de precursores e sua ativação, tem-se a interleucina 5 (IL-5), e inibição da síntese de outras citocinas – tendo como responsável por tal característica a interleucina 10 (IL-10) e favorecimento de respostas imunes humorais (MOSMANN; COFFMAN, 1989).

O vírus infecta os monócitos, macrófagos, células dendríticas e, principalmente, os linfócitos T auxiliares indutores, também denominados T *helper cells*, que são responsáveis pela modulação da resposta imunológica. Todas estas células têm um

marcador fenotípico de superfície denominado CD4 (CD – cluster of differentiation), o qual é o receptor de alta afinidade da proteína gp120 do HIV (LAZAROTTO; DERESZ; SPRINZ, 2010).

Os principais alvos celulares do HIV são células T CD4<sup>+</sup> e subconjuntos de linfócitos T, que desempenham um papel importante na coordenação da resposta imune do hospedeiro a patógenos estranhos (GROUX et al., 1992).

As células T CD8<sup>+</sup> e outro subconjunto de linfócitos T também desempenham um papel fundamental na resposta mediada por células do sistema imunológico. Essas células imunes também são chamadas de linfócitos T citotóxicos (CTL). Eles protegem o hospedeiro de organismos estranhos por meio de lise e não lise. A resposta CTL também elimina células tumorais transformadas e modula a resposta imunológica (LIEBERMAN, 2003).

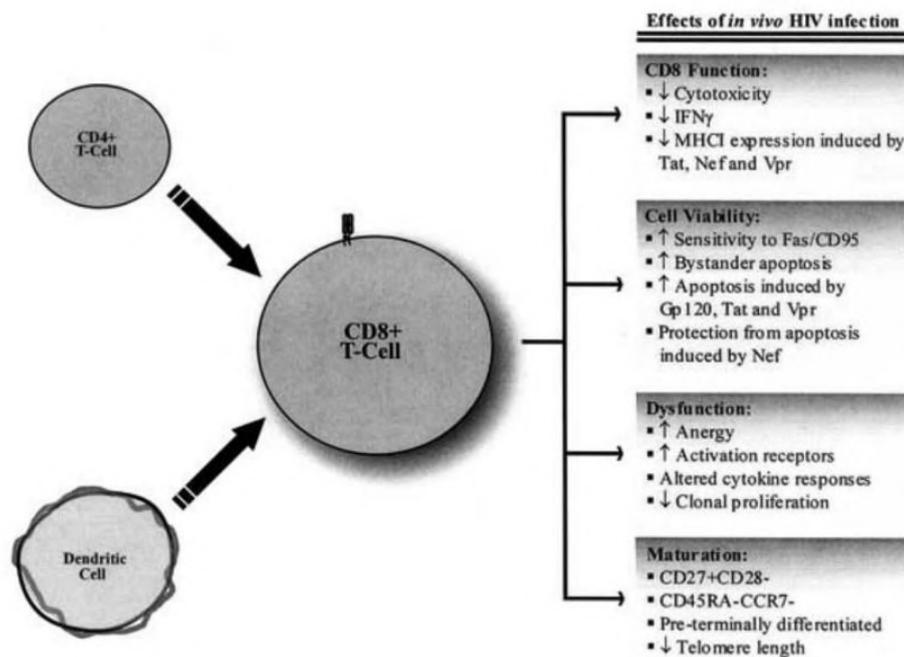
O mecanismo predominante pelo qual os CTL lisam células infectadas é através da secreção de perforina e granzimas (SHANKAR, XU, LIEBERMAN, 1999). O reconhecimento da célula alvo (infectada) ocorre na sinapse imunológica formada entre o receptor da célula T (TcR), receptor do CD8<sup>+</sup> e moléculas associadas. A iniciação da via lítica resulta na liberação de grânulos citolíticos no espaço extracelular entre o linfócito T citotóxico e a célula alvo. A secreção de linfócito T citotóxico do conteúdo dos grânulos consistindo em perforina (uma proteína formadora de poros) e granzimas (proteases de serina) nas proximidades da célula alvo, resulta na morte rápida da célula alvo (HUDIG; EWOLDT; WOODARD, 1993). Uma segunda via lítica, embora menos predominantemente utilizada, é a via mediada por Fas independente de cálcio. Esta via também pode ser usada por células T CD4<sup>+</sup> (YASUKAWA et al., 2000).

Uma via não lítica usada pelas células T CD8<sup>+</sup> para modular a infecção viral é através da secreção de fatores solúveis que auxiliam na neutralização de patógenos estranhos. Essa via não elimina diretamente células infectadas por vírus como as vias mediadas por perforina/granzima e FasL, mas desempenha um papel importante no controle da infecção viral (CHANG, 2002; LEVY; MACKEWICZ; BARKER, 1996; MCMICHAEL; ROWLAND-JONES, 2001).

As células T CD4<sup>+</sup> e as células dendríticas exercem força de ativação e os sinais co-estimulatórios às células T CD8<sup>+</sup> para uma maturação efetiva e geração de

atividade lítica. Durante o curso da infecção, as habilidades das células T CD4<sup>+</sup> e das células dendríticas são prejudicadas, prejudicando assim a maturação adequada das células T CD8<sup>+</sup>. Além disso, as respostas das células T CD8<sup>+</sup> são alteradas na infecção pelo HIV, resultando em efeitos sobre a função, viabilidade celular e maturação dessas células (Figura 4) (GULZAR; COPELAND, 2004).

**Figura 4** - Células T CD8<sup>+</sup>: Função e Resposta à Infecção pelo HIV



**Fonte:** Current HIV Research (2004), Vol. 2, No. 1; Gulzar and Copeland

Além do vírus do HIV ter efeitos sobre as células T CD8<sup>+</sup>, o mesmo acontece sobre as células T CD4<sup>+</sup>. As células T CD4<sup>+</sup> mostraram diminuição, que ocorre por meio da morte celular programada (apoptose) (BADLEY, et al., 2000). No último curso da infecção, a carga viral se correlaciona de forma inversamente proporcional à contagem de células T CD4<sup>+</sup>, devido à progressão da infecção (MERCURE; WAINBERG, 1994).

Na fase inicial da doença, o vírus não tem capacidade de formar sincícios (massa de citoplasma com vários núcleos resultante da fusão de diversas células), sendo assim, considerado um vírus M - trópico. Conforme a doença progride, o vírus passa a ser uma célula da linhagem T CD8<sup>+</sup> (T-trópicos), onde as células monocíticas

e macrófagos servem como reservatórios virais que circulam por todo o sistema linfático, onde atuam para disseminar o vírus para os linfócitos T (MELTZER et al., 1990).

O CD4 foi descoberto como um receptor primário do HIV (LITTMAN,1998), entretanto, foram identificados além dele, mais de 10 co-receptores eficientes na ligação viral do HIV (COPELAND, 2002). Esses co-receptores são encontrados na família de receptores de quimiocinas acoplados à proteína G, dos quais CXCR4 e CCR5 (receptores) são os mais predominantes usados pelo vírus (CLAPHAM; MCKNIGHT, 2002). Como mencionado acima, na fase inicial da doença, o vírus é considerado M-trópico onde essas cepas são conhecidas por utilizarem o receptor CCR5. Em fase mais tardia da infecção, o vírus deixa de ser M - trópico e passa a ser T - trópico, onde é utilizado o receptor CXCR4 (BERGER; MURPHY; FARBER, 1999).

Para que um vírus sobreviva dentro de um organismo ele deve utilizar uma variedade de estratégias a fim de evitar a resposta imunológica do hospedeiro. Uma das estratégias utilizadas pelo vírus na evasão imune são sua capacidade de ocultar a imunidade mantendo a mesma em um estado dormente, minimizando assim a expressão do antígeno, isolando-se em áreas de baixa vigilância imunológica, falhando em exibir antígenos e variação antigênica (ORANGE et al., 2002; PHILLIPS, 2002; TEODORO; BRANTON, 1997).

Como complemento às alterações causadas pelo HIV: as alterações causadas pela replicação viral contínua e depleção de linfócitos T CD4<sup>+</sup> levam a uma ampla gama de manifestações hematológicas, incluindo anemia, leucopenia e trombocitopenia. Essas alterações hematológicas são multifatoriais e, além de outros fatores, como deficiências nutricionais crônicas e defeitos de absorção causados por diversos motivos, também podem ser causadas pela redução da produção relacionada à infiltração tumoral na medula óssea, hematopoiese ineficaz ou medicamentos supressores da medula óssea (LEITE, 2010; OLIVEIRA; OLIVEIRA; SOUZA, 2011; ALVES et al., 2011).

Além das inúmeras alterações imunológicas encontradas nos linfócitos T de indivíduos infectados, as alterações hematológicas também são comuns, principalmente em pacientes em tratamento de longa duração. Devido ao enorme progresso alcançado, o tratamento mais eficaz que ajuda a reduzir a morbidade e

mortalidade é a TARV. Este tratamento tem um inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo (NRTI) associado à lamivudina (AZT) e está associado à toxicidade da medula óssea (OLIVEIRA; OLIVEIRA; SOUZA, 2011).

De acordo com ALVES et al. (2011), entre as manifestações hematológicas citadas, a mais comum na infecção pelo HIV, tendo prevalência entre 63% a 95% entre os infectados pelo vírus, é a anemia. A origem da anemia em pacientes portadores do vírus de HIV conforme DAMINELLI; TRITINGER; SPADA (2010) tem causa multifatorial, podendo estar associada a infecções oportunistas, deficiências nutricionais e determinados medicamentos, além de doenças que se infiltram na medula óssea e provocam modificações nas células progenitoras.

Além da anemia, outra alteração hematológica importante é a leucopenia, onde ocorre uma queda do número absoluto e percentual de linfócitos T CD4+, que em primeira instância pode ser burlada por uma leucocitose ocasionada pelo aumento de linfócitos T CD8+. (AZEVEDO, 2008).

Outrossim da anemia e leucopenia, uma outra alteração hematológica pode estar presente nos pacientes HIV+: plaquetopenia. A causa da plaquetopenia em pacientes positivos para o HIV ainda não está totalmente esclarecida, apenas o que se sabe é que a mesma está ligada a complexos imunes circulantes, hiperesplenismo (associação de esplenomegalia, anemia, plaquetopenia e leucopenia junto com hiperplasia da medula óssea, para compensar a pancitopenia do sangue periférico), além do aumento da destruição periférica das plaquetas e pela presença de antiplaquetários (PINTO; BARROS; COSTA, 2008).

Uma outra hipótese de causa pode estar relacionada a trombopoiese ineficaz devido a ação direta do vírus na linhagem megacariocítica, podendo causar algumas alterações e modificações na função e maturação dessas células. (PINTO; BARROS; COSTA, 2008).

A presença de citopenias, além da marcada diminuição de linfócitos T CD4+, sugere que os efeitos da supressão causada por esta infecção sobre as células da hematopoiese são muito mais abrangentes do que apenas o seletivo subconjunto de células T. O potencial de infecção por este vírus é capaz de atingir até mesmo as células mais primitivas da medula óssea. (LEVINE et al., 2001).

A associação entre o HIV-1 e trombocitopenia foi descrita pela primeira vez no

ano de 1982 (VOLBERDING; BAKER; LEVINE, 2003).

A trombocitose pode ser atribuída a perda de controle da produção pela medula óssea após a infecção pelo vírus, bem como a perda de ferro, a deficiência de vitamina E, e ao uso de drogas mielossupressoras (SILVA; GROTTTO; VILELA, 2001).

A leucopenia é observada com frequência em indivíduos infectados pelo HIV-1, e os valores dos leucócitos durante o curso da infecção encontram-se abaixo de 4.000/ $\mu$ L. O declínio dos neutrófilos costuma ser de maior impacto no hemograma em relação ao declínio dos linfócitos, visto que no curso da infecção há uma perda maior de linfócitos T CD4<sup>+</sup> e o aumento de T CD8<sup>+</sup>, caracterizando uma "falsa" população normal de linfócitos (KULKARNI et al., 2009).

Pacientes que apresentam altas ou baixas contagens de linfócitos T CD4<sup>+</sup> associadas com baixas contagens de leucócitos têm um prognóstico pior do que indivíduos que apresentam altas contagens de leucócitos, pois sugere-se que a baixa contagem de leucócitos está associada à progressão da doença independentemente da contagem de T CD4<sup>+</sup>. Portanto, a baixa contagem de leucócitos apenas reflete uma fase mais avançada da doença nos pacientes onde a data do soro conversão não foi claramente estabelecida (KULKARNI et al., 2009).

A partir do desenvolvimento da TARV, em 1996, as manifestações clínicas decorrentes da infecção pelo HIV tornaram-se menos frequentes, havendo uma melhoria do prognóstico e, por conseguinte, da qualidade de vida do paciente soropositivo (KRAEMER; SPRINZ; LAZZAROTTO, 2009). O principal objetivo do desenvolvimento desta terapia é a inibição da replicação viral (GALLANT et al., 2006) para retardar a progressão da imunodeficiência e restaurar a imunidade (KRAEMER; SPRINZ; LAZZAROTTO, 2009).

O AZT foi sintetizado inicialmente como um agente antitumor que apresentava atividade antirretroviral contra vírus de leucemia em murinos. Ele demonstrou atividade inibitória contra o HIV-1 in vitro e tornou-se o primeiro fármaco a ser aprovado para o tratamento da AIDS e condições relacionadas a ela (PEÇANHA; ANTUNES; TANURI, 2002).

O uso do AZT também está ligado a diversas alterações hematológicas, que são descritas por diversos autores. Muitos pesquisadores concordam que, em alguns casos, a zidovudina é contraindicada como adjuvante na terapia do vírus HIV por se

tratar de uma droga supressiva da medula óssea (NAVARRO; KAPLAN, 2006). A rota intravenosa do AZT está associada a casos de toxicidade hematológica, incluindo neutropenia e anemia severa (BRASIL, 2012). O uso deste medicamento deve ser suspenso quando ocorrer anemia e/ou neutropenia após seu início, desde que exista uma tendência consistente de queda dos glóbulos vermelhos e/ou brancos que leve a potencial prejuízo ao paciente (BRASIL, 2008).

#### 4 DISCUSSÕES

Pesquisas sobre a origem do HIV sugerem que a primeira infecção em humano ocorreu em Kinshasa, (atual República Democrática do Congo), em torno de 1920, quando o HIV foi transmitido de primatas chimpanzés para humanos. Até a década de 1980, não havia uma epidemiologia sobre o número de pessoas que foram infectadas com o HIV ou que desenvolveram a AIDS. A doença e seu agente causal eram, até então, desconhecidos, uma vez que não haviam sido acompanhados a sua transmissão e nem os sinais ou sintomas visíveis (FARIA et al., 2014; AVERT, 2017).

No Brasil, o primeiro caso de AIDS foi notificado em 1980, em São Paulo. No final dos anos oitenta, casos de AIDS foram detectados em várias regiões do país, principalmente nas grandes metrópoles, como Rio de Janeiro e São Paulo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). A partir de 1980 até junho de 2017, foram registrados 576.245 (65,3%) casos de AIDS em homens e 306.444 (34,7%) em mulheres (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). Deste total, a maior concentração de notificações ocorreu nas regiões Sudeste e Sul, correspondendo cada qual a 52,3% e 20,1% do total de casos; as regiões Nordeste, Norte e Centro-Oeste corresponderam a 15,4%, 6,1% e 6,0% do total dos casos, respectivamente (BRASIL, 2017).

Com relação aos aspectos imunológicos da infecção pelo HIV, é notável que seu estabelecimento no organismo ocorre logo após o contato do vírus com as células do indivíduo no local de entrada, que acontece em grande parte através das mucosas (vaginal, peniana, anal ou oral), que pode receber as partículas virais veiculadas pelo sêmen, fluidos vaginais, sangue, líquidos do parto e do leite materno. Embora o HIV possa estar presente em baixas quantidades nas lágrimas, na urina e saliva, a sua transmissão através destes fluidos corporais é extremamente rara (CACHAY, 2017).

A partir das células infectadas no local de entrada, o HIV inicia o seu ciclo replicativo e a infecção estende-se para outras células como macrófagos, células dendríticas, astrócitos, e principalmente para os linfócitos T CD4 + (LTCD4+), que são as principais células de defesa do indivíduo. As infecções pelo HIV apresentam três fases distintas: a infecção aguda, a crônica e a AIDS, que é resultante da destruição gradativa dos linfócitos TCD4+ (CACHAY, 2017).

O curso da fase aguda geralmente se desenvolve entre duas a quatro semanas após a infecção. Durante este período, a replicação do HIV ocorre aceleradamente e o indivíduo poderá sentir sintomas semelhantes ao de uma gripe, como febre, cefaleia, fadiga intensa, enfartamento ganglionar e até erupções cutâneas (CACHAY, 2017). Nas primeiras semanas da infecção, ocorre o aparecimento de anticorpos anti-HIV, que é a chamada soro conversão, período no qual a pessoa infectada possui uma titulação de vírus altíssima e viremia plasmática, facilitando consideravelmente a sua transmissão (BRASIL, 2013). Nessa fase, a imunidade inata atua liberando os LTCD4+ para tentar suprimir a infecção, mas estas células acabam tornando-se alvo do vírus. Inicia-se, então, a queda no número total destes linfócitos, bem como a perda de suas funções, devido ao efeito citotóxico durante o processo de replicação do HIV (CACHAY, 2017).

Na fase crônica da infecção, também conhecida como período de latência clínica, o HIV replica-se lentamente, e o indivíduo infectado poderá ser assintomático, mesmo sem tratamento. Ocasionalmente, sintomas leves poderão aparecer, entre os quais a diarreia, fadiga, anemia e a perda de peso progressiva e, nesta fase, o vírus pode ser transmitido normalmente para outra pessoa. Se o infectado não for submetido a tratamento com os fármacos antirretrovirais (conhecido como coquetel), no máximo em 12 anos, ocorrerá a evolução para a AIDS (BRASIL, 2013; CACHAY, 2017).

A AIDS é estágio mais grave da infecção pelo HIV e geralmente ocorre de 10 a 12 anos após a infecção primária. A imunodeficiência, que é bem característica na AIDS, é resultante da desregulação e da falha dos mecanismos homeostáticos e da imunidade celular do hospedeiro (OKOYE; PICKER, 2014).

O prognóstico das infecções pelo HIV /AIDS dependerá de alguns fatores, entre os quais: o monitoramento da quantidade de LTCD4+; a contagem de hemoglobina; a

quantificação da carga viral; avaliação do estágio ou tipo de progressão da doença; presença de doenças associadas ou de infecções oportunistas; a perda de massa corporal; verificação da variação genética da molécula do antígeno leucocitário (HLA) da classe I; da faixa etária e sexo do paciente; da presença de hipersensibilidade tardia, e do monitoramento de presença de resistência aos medicamentos (conforme descritos abaixo). Todos esses parâmetros devem ser acompanhados, antes e durante o tratamento, por toda a vida do paciente (LANGFORD et al., 2007; MWIMANZI et al., 2012; SHAO; WILLIAMSON, 2012)

A quantificação da carga viral mostra se a replicação está ocorrendo rapidamente, lenta ou constante. Na fase aguda da infecção, a carga viral é alta e representa que o vírus está em fase replicativa. A avaliação do estágio ou tipo de progressão da doença é importante para se detectar os riscos da imunodeficiência, estabelecimento de infecções oportunistas, resistência aos fármacos do coquetel e determinar o tipo de terapia antirretroviral (GERMAN ADVISORY COMMITTEE BLOOD, 2016). A determinação da carga viral pode ser feita por métodos moleculares, como a amplificação pela reação de transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RTPCR). Este método tem sido utilizado para o monitoramento da infecção e auxiliar na tomada de decisão a respeito da intervenção clínica mais adequada nos pacientes com HIV /AIDS (CACHAY, 2017).

Com relação ao tratamento dos indivíduos portadores do HIV/AIDS, é notável que os avanços científicos significativos na área farmacêutica foram obtidos nos últimos 30 anos, principalmente no desenvolvimento de diferentes classes de medicamentos para o tratamento dos pacientes com HIV /AIDS. Tais fármacos têm sido utilizados com sucesso para controlar a replicação do vírus, oferecendo um aumento significativo na taxa de sobrevivência e uma qualidade de vida melhor ao paciente (AVERT, 2017; CACHAY, 2017). É importante notar que as principais drogas utilizadas no tratamento desses pacientes são inibidores das enzimas que atuam na replicação do HIV (ARTS; HAZUDA, 2012). Os fármacos que compõem o coquetel para o tratamento da AIDS são idade específicos e estão distribuídos em seis diferentes classes de antivirais com base em seus mecanismos moleculares de ação e perfil de resistência: (1) inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (2) não inibidores de transcriptase reversa não nucleosídeos, (3)

inibidores da integrase, (4) inibidores de protease, (5) inibidores da fusão, e (6) antagonistas de correceptores (ARTS; HAZUDA, 2012).

O tratamento e o acompanhamento do paciente com HIV/AIDS devem ser interdisciplinares, uma vez que a condição soropositividade ou de doente pode provocar problemas psicológicos e psiquiátricos que dificultam a aceitação pelo paciente da sua própria situação e à adesão ao tratamento (LELUBRE et al., 2015). Ressalte-se que, apesar do tratamento com os antirretrovirais permitir aos pacientes com AIDS uma sobrevida maior e com melhor qualidade, não se elimina a sua condição de portador e de potencial transmissor do HIV (CACHAY, 2017).

O quadro laboratorial revela uma linfopenia com diminuição dos linfócitos CD4+ e CD8+ seguida de uma linfocitose com aumento predominante dos linfócitos CD8+ e um aumento menor nos linfócitos CD4+. A resposta humoral e celular, que são responsáveis pelos sintomas, é induzida duas a quatro semanas após a infecção com altas concentrações de vírus na circulação. Cerca de uma a três semanas após o início dos sintomas é possível a detecção dos anticorpos anti-HIV que são inicialmente de classe IgM e posteriormente substituídos por IgG. Dentre as repercussões hematológicas, o quadro da infecção pelo HIV pode ser acompanhado de linfopenia, pancitopenia ou ainda uma linfocitose com linfócitos atípicos; a manifestação hematológica mais comum é a plaquetopenia, causada geralmente por destruição imunológica; leucopenia com neutropenia na infecção instalada; queda dos linfócitos CD4+, inicialmente mascaradas pelo aumento das células CD8+, resultando em uma linfopenia absoluta na fase sintomática da infecção. O período de latência se expressa, em média, em 10 anos e na fase tardia o paciente possui AIDS e é a etapa onde aparecem as infecções oportunistas e neoplasmas. A contagem de células CD4+ se apresenta entre 50 e 200 células/ $\mu$ l (ALVES et al., 2011; BRASIL, 2010; LEITE, 2010; ZAGO; FALCÃO; PASQUINI, 2004).

## **7 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O presente trabalho teve como objetivo principal discorrer sobre todas as alterações que o vírus do HIV pode causar nas células de defesa do organismo dos seres vivos. Em primeiro momento, o trabalho consistiu em contextualizar sobre o que significa o HIV e sua origem. Em segundo momento, alguns dados sobre os casos de

AIDS no mundo e em como essa infecção vem se tornando cada vez mais presente na vida de adolescentes e adultos. Por fim, o trabalho consistiu em percorrer todo o percurso que o vírus faz e detalhar mais a fundo sobre o que ele faz com as células de defesa do organismo. Esse trabalho pode contribuir com a sociedade acadêmica, trazendo mais informações sobre as problemáticas do HIV nas células do organismo a fim de obter mais conhecimento sobre um vírus que está se tornando comum no mundo, onde a área de pesquisa foram artigos dos últimos 20 anos.

Além disso, esse trabalho ressalta o tratamento de pessoas portadores da infecção pelo HIV, dando uma luz para esses indivíduos que passam por tal situação onde apresentam dificuldades em sua sobrevivência. Nesse ponto, é importante também que indivíduos portadores do HIV façam acompanhamentos psicológicos regulares, uma vez que, em alguns indivíduos, a aceitação da situação do mesmo se torna distante. Entretanto, com o trabalho em questão foi possível observar também o avanço da tecnologia e da ciência, visto que com o passar dos anos desde a descoberta da doença, muitas pesquisas foram feitas para desenvolver o melhor tratamento, obtendo sucesso.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K; et al. **Imunologia celular e molecular, elsevier**, 8. Ed. 2015.

ALVES, L. A. G. B. et al. Prevalência de alterações hematológicas em mulheres com HIV/Aids assistidas em serviço especializado: relato de série de casos. **Revista da AMRIGS**, Porto Alegre, v. 55, n. 4, p. 324-326, out./dez. 2011.

ARTS, E. J.; HAZUDA, D. J. "HIV-1 Antiretroviral Drug Therapy." Cold Spring Harbor. **Perspectives in medicine**, v.2.4 (2012), n. a007161. PMC, 28 de dezembro de 2017.

A TRIBUNA. **Aumenta em 85% o número de casos de AIDS em pouco mais de cinco anos**, 27 ago. 2013.

AVERT. **Global information and education on HIV and AIDS. History of HIV and AIDS overview**, 2017.

AZEVEDO, M. R. A. de. **Hematologia básica: Fisiopatologia: estudo laboratorial** 4.ed. São Paulo, SP: Luana, 2008

BALESTIERI. Filomena Maria Perella, **Imunologia**, v. 1, cap. 22, p. 631-658. São Paulo: Manole, 2006.

BADLEY, A.D.; PILON, A.A.; LANDAY, A. LYNCH, D.H. **Blood**. 96: 2951, 2000.

BERGER, E.A.; MURPHY, P.M.; FARBER, J.M. **Annual Review of Immunology**. 17: 657, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico AIDST**; Ano III, nº. 01, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em saúde departamento de vigilância. **Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais**. Brasília, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em saúde departamento de dst, aids e hepatites virais. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo hiv em adultos**, Brasília. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em saúde departamento de vigilância. **Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais**. Brasília, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Doenças Infeciosas e parasitárias**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília, 2010

CACHAY, E. R. Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection. **Infections - Merck Manuals Consumer version**, 2017.

CHANG TL, MOSOIAN A, PINE R, KLOTMAN ME, MOORE JP. **Revista de Virologia**. 76: 569, 2002.

CLAPHAM PR, MCKNIGHT A. **Journal of General Virology**. 83: 1809, 2002.

COPELAND KF. **Current Medicinal Chemistry**. 9: 1781, 2002.

COURA, J.R. **Dinâmica das Doenças Infeciosas e Parasitárias**, v. 2, cap. 61, p. 1877-1890. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

DAMINELLI, E. N.; TRITINGER, A.; SPADA, C. Alterações hematológicas em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana submetidos à terapia antirretroviral com e sem inibidor de protease, **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 32, n.1, p. 10-15, fev 2010.

FARIA, N. R.; RAMBAUT, A.; SUCHARD, M. A.; BAELE, G.; BEDFORD, T.; WARD, M. J.; LEMEY, P. The early spread and epidemic ignition of HIV-1 in human populations. **Science**, v. 346, n. 6205, p. 56–61, 2014

FAUCI, A.S. **Natureza**. 384: 529, 1996

FILHO, E. A. F.; SENEFFONTE, F. R. A.; LOPES, A. H. A. et al . **Frequência das infecções pelo HIV-1, rubéola, sífilis, toxoplasmose, citomegalovírus, herpes**

**simples, hepatite B, hepatite C, doença de Chagas e HTLV I/II em gestantes**, do Estado de Mato Grosso do Sul, 2007.

GALLANT, J.E.; DEJESUS, E.; ARRIBAS, J.R.; POZNIAK, A.L.; GAZZARD, B. CAMPO, R.E. et al. Study 934 Group. Tenofovir DF, emtricitabine, and efavirenz vs. zidovudine, lamivudine, and efavirenz for HIV, **N Engl J Med**, 354(3):251-60, 19 Jan 2006.

GENDELMAN, H.E. **Immunology Today**. 11: 217, 1990.

GERMAN ADVISORY COMMITTEE BLOOD (Arbeitskreis Blut), Subgroup "Assessment of Pathogens Transmissible by Blood." Human Immunodeficiency Virus (HIV). **Transfusion medicine and Hemotherapy**, v. 43, n. 3, p. 203-222, 2016.

GROUX, H.; TORPIER, G.; MONTE, D.; MOUTON, Y.; CAPRON, A.; AMEISEN, J.C. **J Exp Med**. 175: 331, 1992.

GULZAR AND COPELAND. **Current HIV Research**, Vol. 2, No. 1, 2004.

HUDIG, D.; EWOLDT, G.R.; WOODARD, S.L, **Opinião Atual em Imunologia**. 5: 90, 1993.

KRAEMER, A.S.; SPRINZ, E.; LAZZAROTTO, A.R. O peptídeo-C como indicador de resistência à insulina em pacientes HIV positivos com TARV. **RBAC**, 41(4):267-70, 2009.

KULKARNI, H.; MARCONI, V.C.; HE, W.; LANDRUM, M.L.; OKULICZ, J.F.; DELMAR, J. et al. The Duffy-null state is associated with a survival advantage in leukopenic HIV-infected persons of African ancestry. **Blood**, Sep 24;114(13):2783-92, 2009.

LAGO, R.F.; COSTA, N.R. Comunidades de especialistas e formação de interesses no programa de aids no Brasil, **Ciência & Saúde coletiva**. v. 22, n. 5, p. 1479-1488, 2017.

LANGFORD, S. E.; ANANWORANICH, J.; COOPER, D. A. Predictors of disease progression in HIV infection: a review. **AIDS. Research and Therapy**, v. 4, n. 11, maio, p. 11, 2007.

LAZZAROTTO, A.R.; DERESZ, L.F.; SPRINZ, E. HIV/Aids e treinamento concorrente: a revisão sistemática, **Rev Bras Med Esporte**, 16(2): 149-54, 2010.

LEITE, O. H. M. Alterações hematológicas associadas a infecção pelo HIV, ainda um problema? **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. 1, p. 3-4, 2010.

LELUBRE, M.; KAMAL, S.; GENRE, N.; CELIO, J.; GORGERAT, S.; HUGENTOBLE, H. D.; SCHNEIDER, M. Interdisciplinary Medication Adherence Program: The Example of a University Community Pharmacy in Switzerland. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 10, 2015.

- LEVINE, A.M.; SCADDEN, D.T.; ZAIA, J.A.; KRISHNAN, A. Hematologic aspects of HIV/AIDS. **Hematology Am Soc Hematol Educ Program**, 463-78, 2001.
- LEVY, J.A.; MACKEWICZ, C.E.; BARKER, E. **Immunol Today**, 17 217, 1996.
- LIEBERMAN, J. Current HIV Research. **Nat Rev Immunol**, 2003
- LITTMAN, D.R. Current HIV Research. **Cell**. 93: 677, 1998.
- MARCIA RACHID; MAURO SCHECHTER. **Manual do HIV**. Rio de Janeiro, 2000.
- MC MICHAEL AJ, ROWLAND-JONES SL. **Natureza**. 410: 980, 2001.
- MELO, B.P. et al. Respostas agudas do exercício físico em pessoas infectadas pelo HIV: uma revisão sistemática. **Revista Brasileira Med Esporte**, v. 23, n. 2, mar/abr. 2017.
- MELTZER, M.S.; SKILLMAN, D.R.; HOOVER, D.L.; HANSON, B.D.; TURPIN, J.A.; KALTER, D.C. **Immunology Today**, 1990
- MERCURE, L; WAINBERG, MA. **Medical Hypotheses**, 1994.
- MONTAGNIER, L. Células T CD8+: Função e Resposta à Infecção pelo HIV. **Science**, 2002
- MOSMANN, T.R.; COFFMAN, R.L. **Annual review of immunology**, 1989.
- MONTAGNIER, L. Células T CD8+: Função e Resposta à Infecção pelo HIV. **Science**, 2002
- MWIMANZI, P.; MARKLE, T. J.; UENO, T.; BROCKMAN, M. A. Human Leukocyte Antigen (HLA) Class I Down-Regulation by Human Immunodeficiency Virus Type 1 Negative Factor (HIV-1 Nef): What Might We Learn From Natural Sequence Variants? **Viruses**, v. 4, n. 9, p. 1711– 1730, 2012.
- NAVARRO, W.H.; KAPLAN, L.D. AIDS-related lymphoproliferative disease, **Blood**, 107(1):13-20, 1 Jan 2006.
- OKOYE, A. A.; PICKER, L. J. CD4+ T cell depletion in HIV infection: mechanisms of immunological failure, **Immunological reviews**, v. 254, n. 1, p.54-64, 2013.
- OLIVEIRA, O. C. A. de; OLIVEIRA, R. A. de; SOUZA, L. do R. de. Impacto do tratamento antirretroviral na ocorrência de macrocitose em pacientes com HIV/AIDS do município de Maringá, Estado do Paraná. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 1, p. 35-39, jan./fev. 2011
- ORANGE, J.S.; FASSETT, M.S.; KOOPMAN, L.A.; BOYSON, J.E.; STROMINGER, J.L. **Nat Immunol**. 3: 1006, 2002,
- PALMIRA DE FÁTIMA BONOLO; RAQUEL REGINA DE FREITAS MAGALHÃES

GOMES; MARK DREW CROSLAND GUIMARÃES. Adesão à terapia antirretroviral (HIV/AIDS): fatores associados e medidas da adesão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 16, n. 4, p. 261-278, out/dez 2007.

PEÇANHA; E.P.; ANTUNES, O. A. C.; AMILCAR T.A. NURI. Estratégias farmacológicas para a terapia anti -AIDS. **Química Nova**, v. 25, n. 6B, p. 1108-1116, 2002.

PINTO, C.; BARROS, C.; COSTA, E. Índices plaquetários em doentes infectados com o vírus da imunodeficiência humana e com trombocitopenia. Associação Brasileira de Odontologia, n. 34, p. 21-25, 2008

PHILLIPS, R.E. **Nat Immunol**. 3: 987, 2002.

RACHID, A.; SCHECHTER, A. **Manual de HIV/AIDS**. 10. ed. Rio de Janeiro –RJ: Thieme Revinter Publicações Ltda. 2017. 276p. 2017.

SCHECHTER, W.P. Células T CD8+: Função e Resposta à Infecção pelo HIV, **Arquivos de Cirurgia**. 136: 1419, 2001.

SHANKAR P, XU Z, LIEBERMAN J, **Sangue**. 94: 3084, 1999.

SHAO, Y.; WILLIAMSON, C. The HIV-1 Epidemic: Low- to Middle-Income Countries. Cold Spring Harbor. **Perspectives in Medicine**, v. 2, n. 3, 2012.

SHAW, G. M.; HUNTER, E. **HIV Transmission. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 2, n. 11, 2012.

SILVA, E.B.; GROTO, H.Z.; VILELA, M.M. Clinical aspects and complete blood counts in children exposed to HIV-1: comparison between infected patients and seroreverters. **J Pediatr**, 2001

SIMÕES, E., GOMES, A. L. M. Respostas fisiológicas, hematológicas e bioquímicas do portador de HIV a um programa de atividade física orientada. **Fitness & Performance Journal**, v. 5, n. 3, p. 139-145, 2006.

TEODORO, J.G.; BRANTON, P.E. Current HIV Research. **Journal of Virology**. 71: 1739, 1997.

UNIDADE DE ASSISTÊNCIA - BRASIL. Ministério da Saúde. **AIDS: etiologia, clínica, diagnóstico e tratamento**. Brasília, 2002.

VOLBERDING PA, BAKER KR, LEVINE AM. Human immunodeficiency virus hematology. **Hematology Am Soc Hematol Educ Program**, 294-313, 2003.

YASUKAWA M, OHMINAMI H, ARAI J, KASAHARA Y, ISHIDA Y, FUJITA, **Sangue**. 95: 2352, 2000.

ZAGO, Marco Antonio; FALCÃO, Roberto Passetto; PASQUI- NI, Ricardo. **Hematologia: Fundamentos e Prática**, v.1, cap. 60- 62, p. 691-716. São Paulo: Atheneu, 2004.

 **UniFil**  
2024